

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS  
DOUTORADO EM CIÊNCIAS MÉDICAS  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: INVESTIGAÇÃO BIOMÉDICA**

Paulo Roberto Kechele

**O REPARO DE TELA DE POLIPROPILENO:  
ALTERNATIVA PARA CORREÇÃO DE PERDAS  
NERVOSAS SEGMENTARES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Área de Concentração Investigação Biomédica, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Médicas.

Orientador: Profa. Dra. Tânia Silvia Frode

**FLORIANÓPOLIS  
2012**

K25r      Kechele, Paulo Roberto

O reparo de tela de polipropileno [tese] : alternativa para correção de perdas nervosas segmentares / Paulo Roberto Kechele ; orientadora, Tânia Silvia Fröde. - Florianópolis, SC, 2012.

90 p.: il., grafs. tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

Inclui referências

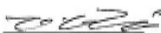
1. Ciências médicas. 2. Sistema nervoso - Regeneração. 3. Polipropileno. I. Fröde, Tânia Silvia. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. III. Título.

CDU 61

O REPARO DE TELA DE POLIPROPILENO: ALTERNATIVA PARA CORREÇÃO DE PERDAS  
NERVOSAS SEGMENTARES

PAULO ROBERTO KECHELE

Tese apresentada pelo aluno Paulo Roberto Kechele ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas  
do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à  
obtenção do título de doutor em Ciências Médicas



Profa. Dra. Tânia Silva Fride

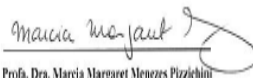
Orientadora



Profa. Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini

Coordenadora

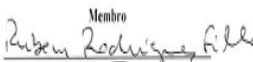
Comissão julgadora:



Profa. Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini



Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi



Prof. Dr. Rubens Rodrigues Filho



Prof. Dr. Giles Alexander Rue



Prof. Dr. Pedro Bins Ely

Membro

Florianópolis, 2012

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Hans Egon e Joaquina Kechele, exemplos de despreendimento, honestidade, generosidade, seres humanos dignos de emulação (in memoriam).

À professora Dra. Tânia Sílvia Fröde, uma pesquisadora incansável, exemplo de educadora e pela paciência e amizade, cujos esforços e dedicação irrestritos, tornaram possível realizar esta tarefa.

Aos professores Drs. Márcia e Emilio Pizzichini, pelo apoio incondicional.

Aos funcionários Maico Oliveira Buss, Luiz Henrique Prazeres e Carlos Alberto Joaquim, do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, incansáveis em seu auxílio.

À Suzana Luciano de Oliveira, pelo apoio, amizade e suporte técnico. Ao sr. Ivo Dedicácio Soares, pela sempre presente e amiga colaboração.

À Eneida Simone Kechele, irmã querida, um estímulo para todas as dificuldades.

Aos colegas e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina pelas horas de agradável convívio.

Sobretudo a DEUS, causa e fonte primária de toda a existência.



## RESUMO

**Introdução:** As lesões de nervos periféricos envolvem uma série de eventos complexos referentes ao tecido lesado, incluindo comprometimento da sinalização axonal, alteração funcional no corpo celular neuronal, ativação de células da glia, e inflamação sistêmica. O que se deseja é a total regeneração de nervos periféricos e completa recuperação da função motora e proprioceptiva. **Objetivos:** 1) Avaliar em ratos Wistar regeneração do nervo mediano submetido a diferentes procedimentos de reconstrução (sutura epiperineural término-terminal (SS), sutura epiperineural imediata sob tensão aliviada (STA) e sutura epiperineural imediata sob tensão (SST), por meio de testes funcionais e dosagem de fatores de crescimento neural. 2) Avaliar os resultados do reparo do nervo mediano em seres humanos com enxertia nervosa e comparar ao reparo que utiliza o suporte com tela externa aplicada aos cotos nervosos, utilizando-se o método de sutura nervosa sob tensão aliviada (STA). **Métodos e Resultados:** 1) Estudo experimental: Quatro grupos experimentais (10 animais/grupo) foram avaliados, baseados no modelo de regeneração nervosa do nervo mediano do rato Wistar (SS, SST e STA). A análise da função do nervo mediano foi aferida pelo retorno da mobilidade das articulações interfalangeanas e metacarpofalangeanas diariamente. O Grasping Test foi avaliado de 30 a 180 dias após o procedimento cirúrgico. A recuperação da atrofia do grupamento muscular flexo-pronador do membro torácico do rato Wistar foi aferido 180 dias após. A expressão do RNAm para as neurotrofinas NT-3 e NGF, foram avaliadas pela técnica PCR-RT após 180 dias. Nos grupos SS e STA a média e o erro padrão da média (e.p.m.) do dia de retorno da função de flexão dos dedos do membro torácico foi de  $13,8 \pm 0,38$  e  $13,7 \pm 0,30$ , respectivamente. Para o grupo SST não se observou nenhum sinal de regeneração. A regeneração do nervo mediano observada indiretamente pelo Grasping Test ocorreu ao longo do período de 180 dias de observação nos grupos SS e STA, sem a menor evidência de regeneração no grupo SST. Neste protocolo experimental observou-se recuperação significativa da atrofia muscular da musculatura flexo-pronadora nos grupos SS e STA quando comparados ao grupo controle ( $P < 0,01$ ). Os resultados demonstraram que houve nos grupos SS e STA, houve aumento significativo da expressão do RNAm para NGF e NT-3 no período de 180 dias pós cirurgia ( $P < 0,01$ ). Não houve recuperação da expressão de neurotrofinas no grupo experimental SST. 2) Estudo clínico: Neste estudo foi comparado um grupo de pacientes ( $n = 4$ ) utilizando a técnica da STA com a tela de polipropileno e um grupo de pacientes submetido à enxertia nervosa ( $n = 6$ ). O nervo mediano foi objeto destas reconstruções, e a evolução da regeneração foi acompanhada pelo retorno do

tato epicrítico e a funcionalidade do músculo abductor curto do polegar. Os resultados obtidos no estudo clínico demonstraram a superioridade do retorno da sensibilidade bem como da força de apreensão do abductor curto do polegar nos pacientes submetidos à reconstrução cirúrgica com a técnica da sutura sob tensão aliviada após 12 meses de acompanhamento pós-cirúrgico. **Conclusão:** os resultados apresentados demonstraram tanto em nível experimental como em pacientes que as vantagens obtidas com a reconstrução nervosa utilizando-se o método de sutura sob tensão aliviada por meio de um suporte externo, comparando-se funções motoras e sensitivas, em perdas nervosas segmentares é comparável à sutura direta imediata, evitando-se a utilização de enxertia nervosa e as comorbidades inerentes a área doadora de nervos.

**Palavras-chaves:** Marlex. Nervo mediano. Neurotrofinas.

## ABSTRACT

**Introduction:** Peripheral nerve injuries are associated to several complex events including axonal signaling, cellular body functions alterations, glial cells activations and systemic inflammation, damage including central and peripheral nervous systems. The outcomes of peripheral nerve regeneration is far from being adequate, provided the most complete recovery of sensitive and motor functions are scarcely achieved. **Objectives:** 1) to evaluate the median nerve regeneration submitted to different surgical reconstructive procedures: EES (end-to-end suture), ATS, (alleviated tension suture), and SUT (suture under tension) groups using functional tests and dimensioning of nerve growth factors in the Wistar rat median nerve. 2) To evaluate the results of the repair of the median nerve in human beings comparing sural grafts and epineurial external splinting utilizing a polypropylene mesh applied to the nerve stumps, namely the alleviated tension suture (ATS).

**Methods and Results:** 1) Experimental group: Four surgical settings ( $n = 10/\text{group}$ ) were evaluated regarding the median nerve regeneration model in the Wistar rat, end-to-end suture, the alleviated tension suture, and suture under tension. The analysis of the functional recovery of the thoracic limb was evaluated observing the return of the finger flexion and the ability to perform the Grasping Test on daily basis. The Grasping test was performed on 30 days intervals during 180 days. The flexor pronator group muscle mass atrophy recovery was allotted after 180 days. The expression of neurotrophins NGF and NT-3 were dimensioned by the RT-PCR methods after of the median nerves at day 180. The return of the finger flexion was similar in the EES and ATS groups, on average 13th postoperative day, and a continuous and progressive increase in strength according to the Grasping Test, on the observational period. The SUT group did not demonstrate signs of recovery nor in the finger flexion or grasping strength increase. On this experimental protocol, we observed a increase of recovery of the atrophy of the flexor-pronator group muscle mass, in the EES and ATS groups, compared to Controls ( $P < 0.01$ ). The SUT group did not evidence signs of increase of muscle mass weight. There was a significant increase in the expression of the RNAm levels for NT-3 and NGF in EES and ATS groups, during the 180 days of observation of the experiments ( $P < 0.01$ ). The SUT group did not evidence this increase in neurotrophins levels in the experiment. 2) Clinical study: A group of 6 patients utilizing the alleviated tension suture technique, ATS, utilizing the marlex mesh, and a group of 6 patients on wich the sural nerve was used as donor graft had the median nerve reconstructed and outcomes were compared. After the surgical procedures, evolution was followed by means of the return of sensibility



and motion and functionality of the abductor pollicis brevis muscle during 12 months of follow-up. The group of patients in the ATS group had a slight superiority on terms of sensitivity return compared to the graft group of patients. Motor function assessment was similar. **Conclusion:** The results presented here demonstrated that in the experimental study as well as in the human group of patients , the alleviated tension suture technique , utilizing the polypropylene mesh as external epineural splint presents similar results in terms of functional as well as sensitive nerve parameters, as the end-to-end immediate repair, on dealing with injuries of peripheral nerves, and mainly, avoiding nerve grafts, with the donor site morbidity.

**Key-words:** Marlex. Median nerve. Neurotrophins.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1-** Demonstração do procedimento cirúrgico realizado no nervo mediano do membro torácico do rato Wistar, com as suturas proximais, distais, e epiperineurais, até a coaptação final epiperineural. A- posição cirúrgica do animal, e a secção do nervo mediano e a remoção de segmento do mesmo. B- início da aproximação dos cotos nervosos com a aplicação dos pontos mais distais ao sítio da neurotmeze. C - aproximação completa com os pontos proximais e distais. D- sutura completa epiperineural.....32

**Figura 2-** Demonstração esquemática da utilização da tela de polipropileno na coaptação nervosa sob tensão aliviada do nervo mediano de rato Wistar. A - pontos de ancoragem distais de nylon 8-0 foram fixados no epineuro e por meio da tela de polipropileno. B- pontos de nylon 8-0 proximais foram aplicados na sequencia. Notar o efeito de aproximação gradativa dos cotos nervosos. C -pontos de nylon 10-0 foram aplicados após a aproximação completa dos cotos axotomizados.....33

**Figura 3-** Rato Wistar apresentando o membro torácico esquerdo denervado, evidente pela incapacidade de flexão das articulações metacarpofalângicas dos dedos, com extensão completa dos mesmos.....36

**Figura- 4** -Teste de apreensão - Grasping Test. O rato Wistar é suspenso firmemente pela cauda, e aproximado da barra do peso conectado à balança de precisão. No momento que o animal prende a barra, força contrária é exercida gradativamente ao momento distracional, até que o animal solte a mesma. O valor negativo é demonstrado na balança de precisão. O membro contralateral é denervado de modo a não interferir no teste.....37

**Figura 5-** Dissecção anatômica do membro torácico do rato Wistar. Observam-se as artérias subclávia, axilar, radial, ulnar. O plexo braquial, nervos mediano, musculocutâneo e ulnar são evidentes. O grupamento muscular flexo-pronador está parcialmente desinserido do epicôndilo medial.....39

**Figura 6-** Grupo muscular flexo-pronador do membro torácico do rato Wistar desinserido do epicôndilo medial. Inervação as expensas do nervo mediano. Dissecção miofascial metuculosa até o retináculo flexor no punho,

mantendo intactos flexor ulnar do carpo e braquiorradial. Observa-se o nervo mediano na posição central do antebraço.....40

**Figura 7-** Demonstração do retorno da função do Teste de preensão (Grasping test) durante o período observacional de 30 a 180 dias do grupo sutura término-terminal imediato: SS. C = controle = falso-operado. Os valores mencionados no gráfico indicam o percentual de aumento da recuperação funcional do nervo mediano. N = 10 animais por grupo..... 47

**Figura 8-** Demonstração do retorno da função do Teste de preensão (Grasping test) durante o período observacional de 30 a 180 dias do grupo sutura sob tensão aliviada: STA. C = controle = falso-operado. Os valores mencionados no gráfico indicam o percentual de aumento da recuperação funcional do nervo mediano.N = 10 animais por grupo..... 48

**Figura 9-** Demonstração do retorno da função do Teste de preensão (Grasping Test) durante o período observacional de 30 a 180 dias do grupo sutura sob tensão: SST (C). C = controle = falso-operado. Os valores mencionados no gráfico indicam o percentual de aumento de aumento da recuperação funcional do nervo mediano.N = 10 animais por grupo..... 49

**Figura 10-** Efeito dos diferentes procedimentos cirúrgicos (sutura término-terminal imediata: SS, sutura sob tensão aliviada: STA e sutura sob tensão: SST) na expressão do RNAm para NGF (A) e NT-3 (B). Os resultados foram calculados pela normatização da expressão de GAPDH. C = grupo controle = falso-operado. As inserções demonstram a intensidade das bandas de NGF e NT-3 detectadas e analisadas utilizando-se Photo-Capt image version 12.4 para Windows. N = 3 animais por grupo. ....50

**Figura 11-** Observação transoperatória do reparo do nervo mediano utilizando-se a tela de polipropileno de acordo com os princípios de Saint-Venant (A) Embora os cotos nervosos tenham sido liberados dos tecidos adjacentes e o punho mantido em posição neutra, os cotos nervosos não podem ser posicionados de maneira a obter afrontamento de bordos nervosos, (B) Com o punho fletido consegue-se o afrontamento parcial dos cotos nervosos, (C) Com o punho mantido em posição neutra percebe-se lacuna nervosa de 3 cm. A tela de polipropileno está adjacente aos cotos nervosos, (D) Após o ancoramento das suturas 1 e 2 ao epineuro do coto proximal a tela é mantida em tração distal contínua. Na sequencia são aplicadas as suturas 3 e 6. (E) Na

aplicação da última sutura percebe-se que a agulha transfixa distalmente a tela em relação ao nervo e proximalmente a tela de maneira a afrontar sem tensão os cotos nervosos utilizando-se suturas de nylon monofilamentar 9-0 com auxílio de microscopia ótica, (F) Finalização do procedimento cirúrgico..... 56



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Oligonucleotídeos (primers) utilizados na reação de PCR-RT e condições físicas de reação.....	42
Tabela 2: Aferição da força muscular e da sensibilidade do nervo mediano por meio da avaliação clínica dos pacientes submetidos á reconstrução nervosa com suporte epineural externo de polipropileno durante 18 meses. ....	58
Tabela 3: Aferição da força muscular e da sensibilidade do nervo mediano por meio da avaliação clínica dos pacientes submetidos á reconstrução nervosa do nervo mediano com enxertia autóloga de nervo sural durante 18 meses. ....	59



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF	Fator de crescimento neural derivado do cérebro
CEUA	Comitê de ética no uso de animais
CCS	Centro de Ciências da Saúde
IM.	Intramuscular
GAPDH	gliceraldeído 3- fosfato desidrogenase.
NGF	Fator de crescimento de nervos
NT-3	Neurotrofina -3
PCR-RT	Reação da polimerase em cadeia utilizando-se a transcriptase reversa
RNA <sub>m</sub>	Ácido ribonucleico mensageiro
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SS	Sutura epiperineural término-terminal
SST	Sutura epiperineural imediata sob tensão
STA	Sutura epiperineural imediata sob tensão aliviada
Temp.	Temperatura
TRK	Receptor de tirosina quinase
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UNISUL	Universidade do Sul de Santa Catarina

BDNF	Fator de crescimento neural derivado do cérebro
CEUA	Comitê de ética no uso de animais
CCS	Centro de Ciências da Saúde
IM.	Intramuscular
GAPDH	gliceraldeído 3- fosfato desidrogenase.
NGF	Fator de crescimento de nervos
NT-3	Neurotrofina -3
PCR-RT	Reação da polimerase em cadeia utilizando-se a transcriptase reversa
RNA <sub>m</sub>	Ácido ribonucleico mensageiro
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SS	Sutura epiperineural término-terminal
SST	Sutura epiperineural imediata sob tensão



STA	Sutura epiperineural imediata sob tensão aliviada
Temp.	Temperatura
TRK	Receptor de tirosina quinase
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UNISUL	Universidade do Sul de Santa Catarina

## SUMÁRIO

RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	8
LISTA DE FIGURAS .....	10
LISTA DE TABELAS .....	14
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	16
1. INTRODUÇÃO .....	20
4.4 Fisiopatologia das lesões .....	20
4.5 Técnicas cirúrgicas .....	22
4.6 Fatores neurotróficos .....	24
2. JUSTIFICATIVA .....	25
3. HIPÓTESES DO ESTUDO .....	25
1. CAPÍTULO 1 - TÍTULO: O REPARO DE TELA DE POLIPROPILENO: ALTERNATIVA PARA CORREÇÃO DE PERDAS NERVOSAS SEGMENTARES. RESULTADOS EXPERIMENTAIS. ....	28
1. OBJETIVO GERAL .....	29
1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	29
2.1 Delineamento do Estudo .....	29
2.2 Procedimento Anestésico .....	30
2.3 Protocolo Experimental .....	30
2.3.1 Procedimento Cirúrgico .....	30
2.3.1.1 Sutura término- terminal imediata (SS) .....	30
2.3.1.2 Sutura sob tensão aliviada (STA) .....	31
2.3.1.3 Sutura sob tensão (SST) .....	34
2.3.1.4 Controle .....	34
2.3.2 Estudo Piloto .....	34
2.3.3 Análise da recuperação funcional do nervo mediano .....	34
2.3.3.1 Dia de retorno da flexão dos dedos do membro torácico .....	34
2.3.3.2 Teste de preensão (Grasping Test) .....	35
2.3.3.3 Avaliação da atrofia muscular do grupo flexo-pronador .....	38
2.3.4 Estudo da expressão do RNAm para neurotrofinas .....	41
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	41
4. RESULTADOS .....	44
4.1 Dia de retorno da flexão dos dedos do membro torácico .....	44
4.2 Teste de preensão (Grasping Test) .....	44
4.3 Avaliação da recuperação da atrofia muscular do grupo flexo- pronador .....	45
4.4 Estudo da expressão do RNAm para neurotrofinas .....	45
.....	47

2. CAPÍTULO 2 - TÍTULO: REPARO EPINEURAL UTILIZANDO TELA PARA A CORREÇÃO TARDIA DE LESÕES DO NERVO MEDIANO EM PACIENTES COM IDADE DE 42 a 57. RESULTADOS PRELIMINARES. ....	52
1. DELINEAMENTO DO ESTUDO .....	53
2. OBJETIVO .....	53
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	53
3.1 Pacientes.....	53
3.2 Critérios de categorização dos pacientes.....	53
3.3 Procedimento cirúrgico .....	54
4. RESULTADOS .....	57
5. DISCUSSÃO .....	60
6. CONCLUSÕES .....	68
7. REFERÊNCIAS .....	70
ANEXO 1 - Aprovação Comitê de Ética no uso de Animais .....	82
ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e esclarecido .....	84
ANEXO 3 - Resumo trabalho publicado intitulado- The mesh repair: tension free alternative on dealing with nerve gaps-experimental results.....	88
ANEXO 4 - Resumo trabalho publicado intitulado- Mesh epineurial splinting for late median nerve repair in older patients: a preliminary report .....	90

## 1. INTRODUÇÃO

As lesões de nervos periféricos situam-se entre as mais incapacitantes que acometem indivíduos em idade produtiva, em face dos múltiplos aspectos concernentes às sequelas deste tipo de afecção.<sup>1-3</sup>

Os tipos de trauma que promovem lesões de nervos periféricos incluem transecção, estiramento, avulsão de raiz nervosa, acarretando lesões importantes desde os receptores na pele ou músculo, incluindo o gânglio da raiz dorsal na medula, até alterações, em nível cortical no sistema nervoso central (SNC). Estas alterações podem ser transitórias ou permanentes cursando com sequelas irreversíveis.<sup>4-6</sup> Estudos demonstraram que, na Suécia, a frequência de acometimento dos membros, especialmente das mãos, em acidentes de trabalho ou fora deles foi de 13,9 casos/100.000 pessoas/ano.<sup>7</sup> Além disso, estudos naquele país demonstraram ainda que as lesões de mãos sem comprometimento de nervos periféricos acarretam custo anual de 15.600 euros relativos a cada paciente. Este valor é acrescido de 63% aos custos com cifras de 27.000 euros, anuais, quando ocorrem lesões de nervos periféricos associados a lesões de tendões.<sup>2</sup>

Hoxie e colaboradores, em 2009 avaliando 134 pacientes demonstraram em um dos centros de referência da Mayo Clinic, E.U.A, que o custo per capita de lesões corto-contusas em mãos alcançou cifras da ordem de 30.754 dólares, com uma perda média de 64 dias de trabalho. O custo total deste grupo de pacientes avaliados, considerando as perdas funcionais resultantes, alcançou valores de mais de 4 milhões de dólares.<sup>8</sup>

Yi-Shiung e colaboradores, em 2010 evidenciaram em estudo retrospectivo após 3 anos de seguimento, nos E.U.A., que as lesões graves de membros superiores ocorrem em uma escala progressiva de perdas sócio-econômicas e emocionais relacionados à gravidade do trauma ocorrido.<sup>9</sup>

### 4.4 Fisiopatologia das lesões

A padronização dos tipos de lesões de nervos periféricos levou Sunderland em 1951 a detalhar os mecanismos de lesão nervosa que ocorrem em escala crescente de envolvimento dos diversos componentes do nervo periférico.<sup>10, 11</sup>

São eles:

Grau I - ocorre lesão da bainha de mielina, com bloqueio temporário da condução nervosa, mantendo a integridade da estrutura nervosa;

Grau II - lesão axonal parcial, degeneração walleriana, porém com integridade da membrana basal;

Grau III - lesão axonal parcial e fragmentação da lâmina basal;

Grau IV - lesão de endoneuro, perineuro e lâmina basal;

Grau V - lesão axonal completa do tronco nervoso.

As lesões de nervos periféricos envolvem uma série de eventos complexos referentes ao tecido lesado, incluindo sinalização axonal, alteração funcional no corpo celular neuronal, ativação de células da glia, e inflamação sistêmica caracterizada por edema e infiltração celular.<sup>12</sup>

Os neurônios lesados precisam mobilizar mecanismos intrínsecos e extrínsecos de reparação, promovendo importante alteração na função do corpo neuronal.<sup>13-14</sup> Quando um axônio é seccionado o aumento do transporte axonal retrógrado em direção ao corpo celular. Concomitantemente, ocorre diminuição na liberação de fatores neurotróficos, comprometendo o núcleo celular e o decréscimo de transporte anterógrado, com agravamento da lesão distal do nervo, e consequente lesão em receptores de pele, músculos e órgãos-alvo<sup>15-19</sup>. Axônios motores preferencialmente reinervam alvos motores, e a junção neuromuscular, da placa mioneural, desempenha papel preponderante na transmissão de mensagens do sistema nervoso central para o músculo.<sup>20-23</sup> É fundamental a presença da lâmina basal, como arcabouço de regeneração das células de Schwann no fenômeno de regeneração dos nervos periféricos.<sup>24,25</sup>

Quando ocorre a neurotmeze i.e. secção total do nervo com a total ruptura dos fascículos nervosos, ocorre a necessidade de realinhamento fascicular cirúrgico adequado, pois os cotos nervosos tendem a retrair e a sutura primária só é possível se não houver tensão no sítio de coaptação.<sup>4,11,26</sup>

O crescimento de axônios após a transecção é um fenômeno delicado. De cada axônio primário, numerosos brotamentos, em geral ao redor de 5 por axônio são formados, e em cada brotamento há um cone de crescimento. Nova membrana basal da célula de Schwann é transportada do corpo celular e incorporada na superfície da membrana do cone de crescimento, aumentando a área de abrangência dos axônios em regeneração, que por sua vez são precedidos pelas células de Schwann migratórias. Este microambiente pode ser atrativo ou repulsivo dependendo da liberação de fatores neurotróficos.<sup>27-29</sup>

Estudos realizados por Merzenich e colaboradores, 1983, em modelo primata demonstraram que após a neurotmeze do mediano, no nível do SNC existe uma deaferentação seletiva do córtex neural somatosensitivo. Estes autores demonstraram que o nervo acometido tem a sua área de representação córtico-motora diminuída, e as áreas deaferentadas são invadidas pelas áreas somatosensitivas vizinhas, até que a reconexão neural

substituta seja restabelecida. A transecção nervosa de nervos medianos, em primatas foi acompanhada por mapeamento cerebral cortical nas áreas motoras de Broadmann demonstrada por potenciais evocados somatosensitivos corticais, e eletroencefalogramas seriados. Além disso, após 9 meses as áreas previamente inervadas pelo nervo mediano de primatas foram inervadas pelos nervos ulnar e radial. Após a correção cirúrgica tardia houve regressão aos padrões eletrofisiológicos basais, porém com intensidade muito diminuída.<sup>30</sup>

Estudos experimentais e em seres humanos utilizando-se análises histoquímicas não revelaram recuperação efetiva funcional dos nervos periféricos quando seccionados.<sup>31-33</sup> Os testes de eletroneuromiografia não demonstram confiabilidade, bem como as velocidades de condução e as latências proximais e distais também não refletem efetivo aporte neuronal funcional.<sup>34-37</sup> Além disso, não existe correlação entre dados histopatológicos ou histomorfométricos, com o retorno funcional efetivo dos nervos periféricos, após reconstrução, mesmo na presença de fibras mielinizadas em grande quantidade e com efetiva demonstração de regeneração observada sob microscopia eletrônica.<sup>11,12,30</sup>

Progressos importantes têm sido obtidos no estudo da regeneração pós-traumática de nervos periféricos. Além disso, a compreensão dos mecanismos imunes e neurobiológicos envolvidos neste processo pode promover avanços importantes no entendimento destas lesões.<sup>4,11,17,38</sup>

Os modelos animais que são utilizados para a demonstração de regeneração nervosa são variados e cada espécie apresenta suas peculiaridades.<sup>13,26,30,39-42</sup> O rato Wistar possui similaridade com a estrutura e a disposição anatômica dos nervos periféricos quando comparado aos seres humanos, como demonstrado por Bertelli e Mira (1995).<sup>40</sup>

## 4.5 Técnicas cirúrgicas

Nos casos onde não exista a possibilidade de realizar-se a sutura direta, a enxertia interfascicular é ainda a opção mais viável, respeitadas as limitações inerentes ao processo, como a necessidade da regeneração nervosa atravessar uma dupla linha de suturas, e a fibrose decorrente da utilização de fios na área de coaptação, além da dispersão de axônios no processo regenerativo.<sup>43-45</sup> Os enxertos de nervos autólogos são a resposta adequada para a regeneração, mas não é destituída de complicações inerentes a técnica.<sup>46-48</sup> A perda da função da área inervada da zona doadora, alterações

de sensibilidade, retrações cicatriciais, e contraturas articulares são frequentes.<sup>6,17,49-51</sup>

O padrão de excelência para a reconstrução de nervos periféricos lesados, ou seja, a sutura direta término-terminal imediata, raramente é factível, pois após 12 h há uma retração dos cotos axotomizados, impedindo a adequada coaptação da neurotme.<sup>52,53</sup> Estudos preconizam a enxertia nervosa para lacunas próximas de até 2 cm.<sup>54-57</sup> Entretanto, se por um aspecto enxertos nervosos favorecem melhor regeneração comparados à sutura sob tensão, os resultados de enxertos são inferiores quando se utilizam reparos diretos, sem tensão nos cotos nervosos.<sup>17,43,58,59</sup> Deste modo, existe um período adequado de aproximadamente 10 dias para conseguir-se a coaptação adequada dos cotos nervosos findos os quais, necessita-se alternativas de procedimentos reconstrutivos para a reconexão nervosa.<sup>60-62</sup> A questão torna-se ainda mais relevante quando o nervo lesado apresenta perda de tecidos nervosos segmentares importantes relacionados à sua estrutura, necessitando interposição segmentar de nervo autólogo para correção da lesão, ou tentar-se o procedimento de sutura nervosa sob tensão.<sup>17,52,63-69</sup>

O que se espera na regeneração de nervos periféricos é a mais efetiva recuperação da função motora e proprioceptiva, o que raramente ocorre.<sup>4,11,17,32,70-72</sup> A microcirurgia reconstrutiva alcançou importante estágio de refinamento técnico utilizando-se materiais para procedimentos delicados e precisos, favorecendo a possibilidade de uma melhor regeneração nervosa.<sup>17,42,44,49,73-75</sup> Pesquisas no sentido de reorientar fascículos nervosos, durante o ato operatório, mapear fascículos sensitivos ou motores, utilizando marcadores histoquímicos, demonstraram também utilidade, evitando-se disseções amplas que poderiam lesar a rede vascular dos nervos periféricos.<sup>30,60,76-78</sup>

Não existe consenso entre os diversos autores na literatura, quanto ao tamanho do espaço residual crítico entre os cotos nervosos axotomizados que deve ser submetido à sutura sob algum grau de tensão, ou utilizar a reconstrução cirúrgica com a utilização de enxertia nervosa autóloga.

Em 1976, Millesi e colaboradores estabeleceram um paradigma na cirurgia de reconstrução de nervos periféricos ao preconizar que espaços residuais entre os cotos nervosos seccionados de 2,5 cm ou mais deveriam ser reconectados utilizando-se enxertia nervosa autóloga evitando-se deste modo a sutura sob tensão e seus potenciais efeitos deletérios sobre a regeneração nervosa.<sup>52</sup>

Entretanto existem diversos estudos demonstrando que os nervos periféricos suportam adequadamente graus de tensão variáveis, sem evidente prejuízo morfológico ou funcional.<sup>20,79,80</sup> Isto se torna atraente no sentido de que determinados tipos de lesões de nervos periféricos seriam

passíveis de ser reconstruídos evitando-se deste modo, a utilização de enxertia nervosa autóloga, que não é isenta de comorbidades, como dor residual na área doadora, perda de sensibilidade no dermatomo correspondente ao nervo doador removido, distrofia simpática reflexa, contraturas musculares, e alterações tróficas locais.

A utilização de dispositivos internos ou externos visando aliviar a tensão no sítio de coaptação nervosa ganhou atenção recentemente, como alternativa técnica passível de ser utilizada na reconstrução de defeitos segmentares que necessitariam de outro modo a utilização de enxertos nervosos autólogos.<sup>39,42,81</sup>

de Medinacelli foi o pioneiro na literatura médica direcionada ao reparo de lesões nervosas, na introdução do princípio de Saint-Venant em 1991.<sup>82</sup> Resumidamente o princípio dita que, se força de tração é aplicada às bordas de um cilindro elástico, forças dispersivas são direcionadas às extremidades do cilindro. Entretanto, se a força tensional é aplicada distalmente às bordas, forças uniformemente distribuídas são produzidas nas extremidades do cilindro.<sup>82</sup>. Deste modo preconizamos a utilização do arcabouço de suporte neural externo, a tela de polipropileno, para atuar como fator de distribuição tensional homogênea.

#### **4.6 Fatores neurotróficos**

A lesão neuronal induz a expressão de uma variedade de substâncias em neurônios sensitivos e motores, incluindo os glânglios da raiz dorsal da medula espinal. As alterações são moduladas por suporte exógeno de neurotrofinas do tipo fator de crescimento do nervo (NGF) e neurtrofina-3 (NT3) 83, entre outras.

A análise dos resultados funcionais na reconstrução de lesões de nervos periféricos pode ser demonstrada por testes eletrofisiológicos, testes funcionais, e ainda por meio da dosagem de fatores de crescimento neurais envolvidos neste processo regenerativo.

A dosagem de NGF e NT-3 pode temporalmente demonstrar o pico máximo de ação destes fatores, e também ser correlacionados com prognósticos relativos ao resultado final da técnica cirúrgica empregada, bem como do tempo adequado para realizar a coaptação cirúrgica.

Estudos utilizando-se modelos experimentais demonstraram a participação de neurotrofinas na regeneração de nervos periféricos regulando a apoptose celular, por meio da ativação de receptores específicos como o



receptor da tirosina quinase do tipo Trk/p 75. Estas substâncias são também produzidas por células não-neuronais, como osteoblastos, leucócitos ou fibroblastos.<sup>19,84</sup>

As neurotrofina NT-3 e NGF são fundamentais para a sobrevivência e a regeneração das células de Schwann no processo de mielinização do sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP).<sup>85,86</sup> Estudos demonstraram que a neurotrofina NT-3 possui importante função no que diz respeito ao aumento da amplitude da latência distal na eletromiografia e na velocidade de condução nervosa, no número e espessura de axônios, bem como no aumento do diâmetro de suas fibras, no modelo de transecção de nervo ciático, em ratos.<sup>87</sup> O fator de crescimento neural NGF ainda é capaz de conectar-se à laminina, um componente da matriz extracelular fundamental para promover o reparo de lesões de nervos periféricos.<sup>88</sup>

O estudo de mediadores relacionados à regeneração de nervo, bem como o desenvolvimento de procedimentos cirúrgicos que possam recuperar a função nervosa após trauma e de testes funcionais adequados para avaliação desta regeneração são importantes para determinar a adoção de conduta clínica adequada.

## 2. JUSTIFICATIVA

Não existem trabalhos experimentais publicados comparando os diversos métodos de reconstrução cirúrgica evitando-se a utilização de enxertos nervosos autólogos, utilizando dados comparativos de testes funcionais e dosagens de neurotrofinas. Isto é de crucial importância no momento de decisão de realizarem-se procedimentos visando o tratamento de lesões de nervos periféricos na prática clínica diária na atividade de microcirurgia reconstrutiva. Não existem condições técnicas de realizarem-se simulações computacionais avaliando-se o retorno funcional motor e sensitivo relativos à regeneração de nervos periféricos, atualmente.

## 3. HIPÓTESES DO ESTUDO

**H0** = Hipótese nula Os procedimentos cirúrgicos utilizados em animais submetidos a neurotmesa do nervo mediano não promovem a recuperação da função motora do nervo mediano de ratos, bem como o aumento da expressão de neurotrofinas do tipo NT3 e NGF.

**H1** = Os procedimentos cirúrgicos utilizados em animais submetidos a neurotmese do nervo mediano promovem a recuperação da função motora do nervo mediano de ratos, bem como o aumento da expressão de neurotrofinas do tipo NT3 e NGF.

Neste trabalho optou-se em demonstrar os resultados experimentais e clínicos em dois capítulos.



**1. CAPÍTULO 1 - TÍTULO: O REPARO DE TELA DE  
POLIPROPILENO: ALTERNATIVA PARA CORREÇÃO DE  
PERDAS NERVOSAS SEGMENTARES. RESULTADOS  
EXPERIMENTAIS.**

## **1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a regeneração do nervo mediano submetido a diferentes procedimentos de reconstrução: sutura epiperineural término-terminal (SS), sutura epiperineural imediata aliviada (STA) e sutura epiperineural imediata sob tensão (SST), por meio de testes funcionais e a dosagem de fatores de crescimento neurais, em ratos Wistar após 180 dias de pós-cirurgia.

### **1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Avaliar a regeneração do nervo mediano utilizando como testes funcionais: a determinação do dia de retorno de flexão dos dedos do membro torácico e teste de preensão Grasping Test,
- 2) Avaliar a regeneração do nervo mediano mensurando a recuperação da atrofia do grupo muscular flexo-pronador do membro torácico,
- 3) Avaliar a participação de neurotrofinas por meio da dosagem da expressão do RNAm para o fator de crescimento de nervo (NGF) e para neurotrofina-3 (NT-3).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Delineamento do Estudo**

Estudo prospectivo experimental randomizado controlado duplo cego.

Para avaliar a hipótese do estudo in vivo, foi concebido um ensaio randomizado controlado utilizando-se 40 ratos Wistar, machos, pesando 220 g de 12 a 14 semanas de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Neste protocolo experimental os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, a saber: Grupo (1) sutura epiperineural término-terminal imediata (SS) (n = 10), Grupo (2) sutura epiperineural imediata sob tensão aliviada (STA), Grupo (n = 10), Grupo (3) sutura epiperineural imediata sob tensão (SST) (n = 10) e Grupo (4) falso-operado (n = 10). Os animais foram mantidos em ambiente com ciclo claro-escuro controlado de 12 h, em gaiolas de plástico individuais, com livre acesso a água e a ração. Este projeto foi aprovado pela

Comissão de Ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) protocolo (PP00239).

## **2.2 Procedimento Anestésico**

Os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico, medicados com 0,2 ml de sulfato de atropina a 0,2 %, na dose de 0,044 mg/kg, administrado na face interna da coxa do membro pélvico esquerdo por via intramuscular (I.M.). Após 10 minutos, 0,4 ml de solução de cloridrato de cetamina (Ketalar\*), quimicamente designado com o nome de 2-(o-clorofenil)-2-(metil-amina) ciclo hexanona, na dose de 100 mg/kg e 0,3 ml de solução aquosa a 2% de cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5-6-diidro-4H-1,3-tiazina (Rompum\*), na dose de 8 mg/kg, foram administradas por via intramuscular, na face interna da coxa do membro pélvico direito do animal.89-91.

## **2.3 Protocolo Experimental**

### **2.3.1 Procedimento Cirúrgico**

Após o procedimento anestésico, os animais foram posicionados em uma placa de madeira plana, 30 x 35 cm, por meio da fixação de material elástico em cada um dos membros torácicos e pélvicos. A seguir foi realizada a epilação manual, da face ventral do membro torácico a ser submetido ao procedimento selecionado e assepsia com solução de iodopovidona tópica. A colocação de campos cirúrgicos foi realizada com área de exposição do membro de aproximadamente, 16 cm<sup>2</sup>. Após o procedimento cirúrgico os animais foram acondicionados isoladamente em gaiolas de plástico por períodos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias, para posterior análise dos testes funcionais e dosagem de neurotrofinas.

Para os grupos de estudo foram realizados os seguintes procedimentos

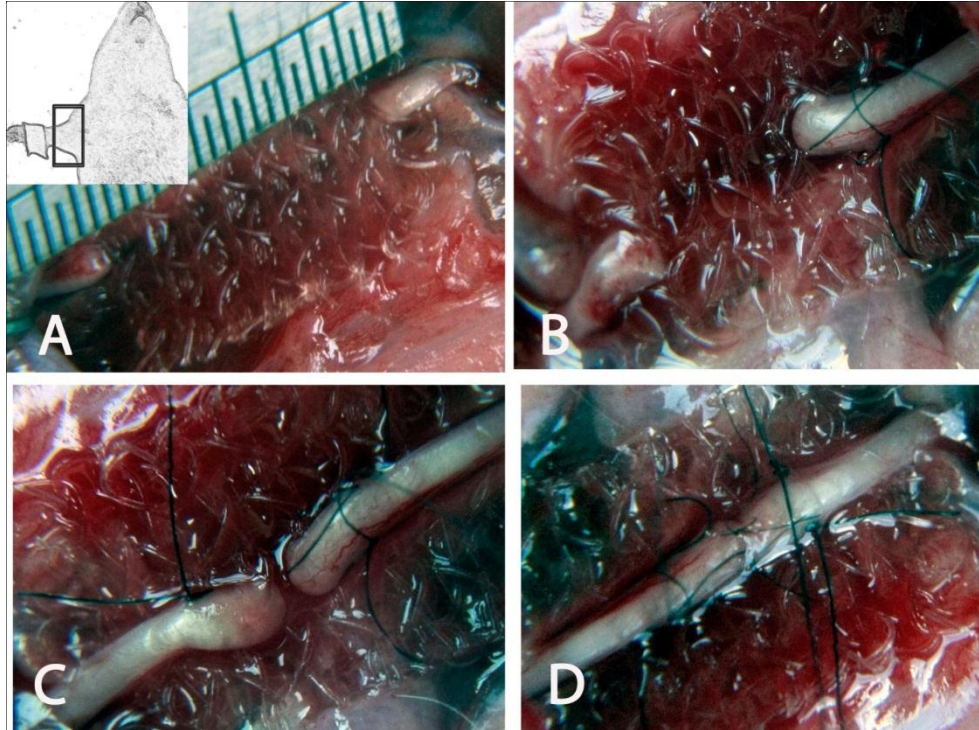
#### **2.3.1.1 Sutura término- terminal imediata (SS)**

Após a anestesia foram realizados os seguintes procedimentos: 1) incisão de aproximadamente 25 mm abrangendo a face média ventral do membro torácico com lâmina de bisturi número quinze, cabo de bisturi

número quatro; 2) dissecação do tecido celular subcutâneo com tesoura microcirúrgica curva e pinças anatômicas microcirúrgicas, afastamento das bordas da incisão com fios de reparo mononylon 5-0; 3) hemostasia com eletrocautério bipolar, compressas de gazes e localização do ramo do nervo cutâneo braquial medial, cruzando anteriormente músculos bíceps braquial e braquial, referência anatômica para localizar a artéria braquial, situada abaixo e medialmente ao nervo cutâneo braquial medial do braço; 4) irrigação dos tecidos com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, para evitar ressecamento dos mesmos durante o procedimento operatório; 5) localização proximal do músculo peitoral maior, dos nervos mediano e ulnar e da artéria braquial; 6) dissecação do nervo e artéria braquial até sua divisão em artérias ulnar e radial, no cotovelo do animal, com auxílio de microscopia ótica de 16 x, neurotmeze com tesoura do nervo mediano, 4 mm acima do cotovelo; 7) Aproximação dos cotos nervosos com auxílio de material de síntese microcirúrgica, e reconexão nervosa com microneurorrafia término-terminal com 3 pontos simples de fio de nylon® monofilamentar 10-0, agulha Bv-130-5; 8) sutura da pele com fio de ácido poliglicólico trançado, 7-0, agulha cortante curva, em pontos separados (Figura 1).

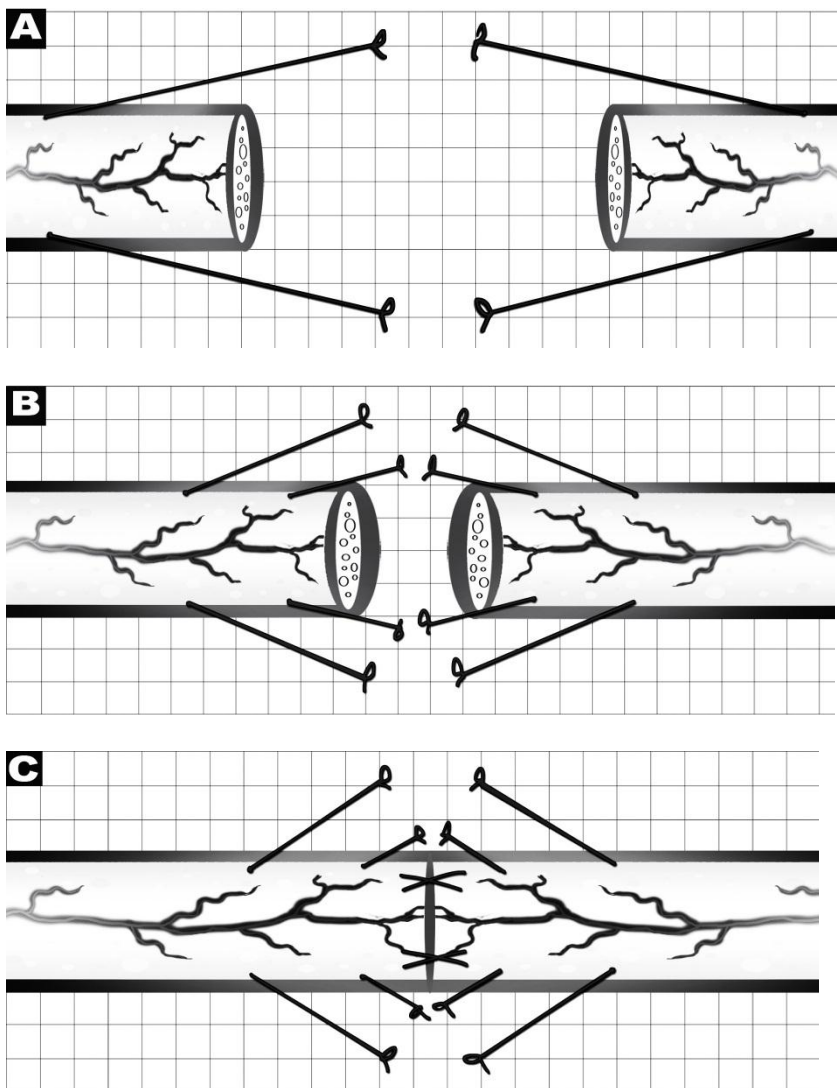
### **2.3.1.2 Sutura sob tensão aliviada (STA)**

Os mesmos procedimentos do grupo SS foram executados até o item 6. Neste passo, um segmento de 7 mm do nervo mediano foi excisado e ventralmente ao nervo aplicado tela de polipropileno (Marlex®) medindo 16x10 mm (Ethicon Somerville, NJ, E.U.A.). Os cotos nervosos foram afrontados após aplicar-se 4 pontos de ancoragem na tela de polipropileno, de nylon® 8-0 proximalmente e 4 pontos de nylon® distalmente ao sítio da transecção nervosa. Os pontos foram aplicados a 10 e 5 mm dos cotos nervosos, de maneira oblíqua e longitudinal permitindo a tração dos cotos nervosos. Gradualmente à medida que os nós distais eram aplicados, os cotos eram trazidos em contato mais próximo. Os pontos distantes 10 mm foram aproximados inicialmente e os pontos distantes de 5 mm secundariamente. Ao término da aproximação foram aplicados 3 pontos simples epiperineurais com fio monofilamentar de nylon® 10-0, agulha Bv-130-5, suturando o sítio da transecção (Figuras 1 e 2).



**Figura 1-** Demonstração do procedimento cirúrgico realizado no nervo mediano do membro torácico do rato Wistar, com as suturas proximais, distais, e epiperineurais, até a coaptação final epiperineural. **A-** posição cirúrgica do animal, e a secção do nervo mediano e a remoção de segmento do mesmo. **B-** início da aproximação dos cotos nervosos com a aplicação dos pontos mais distais ao sítio da neurotome. **C** - aproximação completa com os pontos proximais e distais. **D-** sutura completa epiperineural.





**Figura 2-** Demonstração esquemática da utilização da tela de polipropileno na coaptação nervosa sob tensão aliviada do nervo mediano de rato Wistar. **A** - pontos de ancoragem distais de nylon 8-0 foram fixados no epineuro e por meio da tela de polipropileno. **B**- pontos de nylon 8-0 proximais foram aplicados na sequência. Notar o efeito de aproximação gradativa dos cotos nervosos. **C** -pontos de nylon 10-0 foram aplicados após a aproximação completa dos cotos axotomizados.

### **2.3.1.3 Sutura sob tensão (SST)**

Os mesmos procedimentos utilizados nos grupos prévios foram realizados, até o item 6. A seguir o nervo mediano foi submetido à excisão segmentar de 7 mm. Reconexão do sítio de transecção com fio de nylon 10-0, três pontos simples epiperineurais. Aferição da integridade das suturas por meio da observação da integridade da mesma após a flexo-extensão passiva dos cotovelos, ombros e punhos do rato, previamente ao cerramento da incisão cirúrgica.

### **2.3.1.4 Controle**

Para o grupo-controle também denominado de falso-operado a sequência dos passos cirúrgicos foi a mesma até o item 5. Após identificação do nervo mediano, foi realizado o cerramento da pele.

## **2.3.2 Estudo Piloto**

Em estudo piloto em busca do tamanho exato de segmento do nervo mediano que necessitaria ser removido para subsequente reconstrução nervosa sob tensão, foram realizadas transecções seriadas com remoções de segmentos nervosos que variaram de 3 a 9 mm, 5 animais em cada grupo. As perdas nervosas segmentares de 6 a 9 mm não evidenciaram nenhum retorno funcional após 180 dias de pós-operatório, baseando-se nos teste de preensão (*Grasping Test*) e de retorno de flexão dos dedos do membro torácico do rato Wistar. Optou-se por utilizar o tamanho para remoção de segmentos nervosos de 7 mm nos experimentos realizados utilizando-se a técnica de sutura sob tensão aliviada (STA).

### **2.3.3 Análise da recuperação funcional do nervo mediano**

#### **2.3.3.1 Dia de retorno da flexão dos dedos do membro torácico**

Para todos os grupos, os animais foram avaliados pelo teste de preensão (*Grasping Test*) antes do procedimento cirúrgico para avaliar a normalidade dos animais em relação à regeneração do nervo mediano e os mesmos testes foram aplicados novamente após o procedimento cirúrgico utilizando-se os mesmos critérios. Inicialmente os animais foram observados diariamente até o 300º dia para constatação do início do retorno da movimentação ativa dos dedos do membro torácico,

denominado dia da recuperação funcional (Figura 3), e novamente nos períodos de 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o ato cirúrgico. Esta figura ainda demonstra a denervação do nervo mediano pela incapacidade de flexão das articulações metacarpofalângicas.

### **2.3.3.2      Teste de preensão (Grasping Test)**

O Grasping Test foi avaliado em todos os grupos de animais (SS, STA, SST e falso-operado) previamente ao procedimento cirúrgico e 30, 60, 90, 120 e 180 dias após o procedimento cirúrgico de acordo com a metodologia descrita por Bertelli e Mira em 1995<sup>40</sup>.

O Grasping Test é realizado da seguinte maneira: um peso de 500 g que possui uma barra conectada à sua parte superior, possibilitando ao mesmo ser apreendido pelo membro torácico do rato, é fixado a uma balança eletrônica de precisão. A balança eletrônica é tarada em zero (0) toda vez que o experimentador efetua o experimento. O rato é elevado pela cauda e simultaneamente aproximado em direção à barra de apreensão conectada a peso de 500 g.

Uma vez que tenha realizado a apreensão dos dedos, o animal é elevado até que solte a barra. Neste instante o valor negativo no visor é registrado (Figura 3).

Cada animal foi testado 3 vezes para obtenção da média e e.p.m.. Os resultados foram expressos em gramas (g).



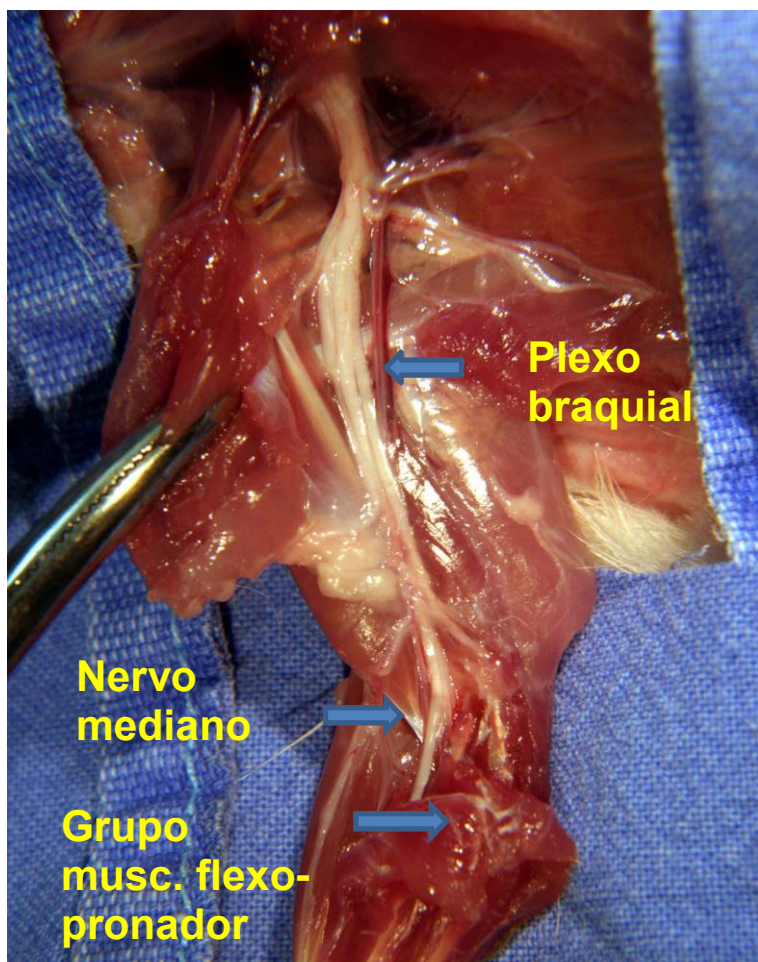
**Figura 3-** Rato Wistar apresentando o membro torácico esquerdo denervado, evidente pela incapacidade de flexão das articulações metacarpofalângicas dos dedos, com extensão completa dos



**Figura 4-** Teste de apreensão - *Grasping Test*. O rato Wistar é suspenso firmemente pela cauda, e aproximado da barra do peso conectado à balança de precisão. No momento que o animal prende a barra, força contrária é exercida gradativamente ao momento distracional, até que o animal solte a mesma. O valor negativo é demonstrado na balança de precisão. O membro contralateral é denervado de modo a não interferir no teste.

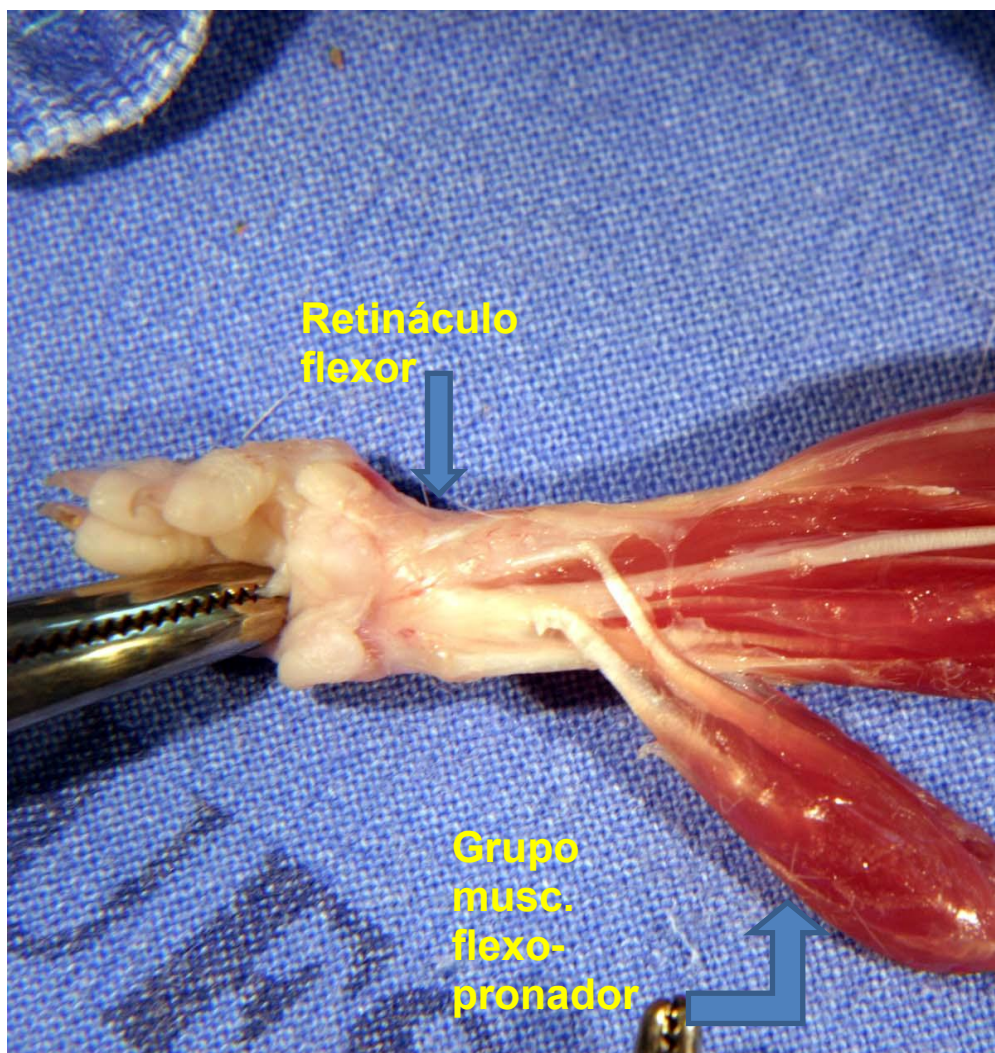
### **2.3.3.3 Avaliação da atrofia muscular do grupo flexo-pronador**

No dia 180 após a cirurgia, todos os animais foram mortos de forma indolor e assistida com overdose de anestésico e o grupamento muscular flexo-pronador do antebraço do rato Wistar foi removido desde a área do epicôndilo medial até a margem proximal do retináculo flexor. Os músculos flexor ulnar do carpo e braquioradial foram mantidos intactos. Todos os grupos de animais submetidos aos experimentos foram comparados, correlacionando-se a recuperação da atrofia do grupo muscular flexo- pronador. O padrão de referência da comparação foi o peso do grupo muscular inervado pelo nervo mediano no animal mantido intacto no grupo controle. Todos os membros aferidos foram submetidos à remoção em bloco, do grupo muscular flexo-pronador, e imediatamente pesados em balança de precisão. (Figuras 5 e 6). Os resultados foram expressos em miligramas (mg).



**Figura 5-** Dissecção anatômica do membro torácico do rato Wistar. Observam-se as artérias subclávia, axilar, radial, ulnar. O plexo braquial, nervos mediano, musculocutâneo e ulnar são evidentes. O grupamento muscular flexo-pronador está parcialmente desinserido do epicôndilo medial.





**Figura 6-** Grupo muscular flexo-pronador do membro torácico do rato Wistar desinserido do epicôndilo medial. Inervação as expensas do nervo mediano. Dissecção miofascial meticulosa até o retináculo flexor no punho, mantendo intactos flexor ulnar do carpo e braquioradial. Observa-se o nervo mediano na posição central do antebraço.



### **2.3.4 Estudo da expressão do RNAm para neurotrofinas**

Para todos os grupos (SS, STA, SST e falso-operado) a expressão do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) do NGF e NT-3 foi analisada no nervo mediano que foi removido cirurgicamente em toda a sua extensão 180 dias após a cirurgia inicial. Como controle genômico interno utilizou-se o gliceraldeído 3- fosfato desidrogenase (GAPDH). Estes experimentos foram realizados no laboratório GENOLAB de Blumenau utilizando-se a técnica da reação da polimerase em cadeia e a transcriptase reversa (PCR-RT).

A reação de RT-PCR foi realizada utilizando-se os reagentes da Ready-To-Go RTPCR Beads (Amersham Biosciences, EUA) e os iniciadores (primers) específicos (Gibco BRL, EUA) (Tabela 1). As reações foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante usando-se o termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc., EUA). Posteriormente, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose (1,5%) corada com brometo de etídio (5 mg/mL) e observadas com auxílio de luz ultra violeta (ImageMaster VDS, Amersham Pharmacia, Suíça). A emissão de fluorescência foi fotografada para posterior análise de comparação com os grupos controles.

## **3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados dos experimentos realizados são apresentados com a média  $\pm$  erro padrão da media (e.p.m.) e/ou em valores percentuais. As diferenças estatísticas entre os grupos de estudo foram determinadas pela análise de variância (ANOVA), teste de Dunnett's ou teste T de Student. Todos os testes foram bicaudal e não pareado. Os percentuais dos resultados obtidos no Grasping Test, recuperação da atrofia muscular do grupo flexo-pronador, peso muscular e expressão do RNAm para as neurotrofinas foram calculadas em relação ao grupo controle (falso-operado). Para análise de todos os testes utilizou-se o Programa Graph-Pad Prism® versão 3.0 (CA, EUA). Valores de P menores ou iguais a 0,05 foram considerados indicativos de diferenças significativas.

**Tabela 1** – Oligonucleotídeos (iniciadores) e condições usadas nas reações de RT-PCR.

Gene	Iniciadores	Produto de amplificação (pb.)	Ciclos de amplificação	Temp. (°C) de desnaturação	Temp. (°C) de hibridização	Temp. (°C) de extensão	Registro no GenBank
$\beta$ -actina	CCAACCGTGAAAAGATGACC GCAGTAATCTCCTTCTGCATCC	606	30	95	52	72	<a href="#">BC138614.1</a>
TNF- $\alpha$	CTGGGACAGTGACCTGGACT GCACCTCAGGGAAGAGTCTG	204	36	95	50	72	<a href="#">BC137720.1</a>
IL-1 $\beta$	CAGGCAGGCAGTATCACTCA AGGCCACAGGTATTTTGTCTG	350	35	95	53	72	<a href="#">BC11437.1</a>
VEGF- $\alpha$	ACCCGTGACTGAGGTTTGAC TTTCTTGCGCTTTCTGTTTTT	199	36	95	56	72	<a href="#">NC000083.5</a>
IL-17A	TCTCTGATGCTGTTGCTGCT CGTGGAACGGTTGAGGTAGT	195	38	95	48	72	<a href="#">BC119309.1</a>

**Tabela 1:** Oligonucleotídeos (primers) utilizados na reação de PCR-RT e condições físicas de reação



## 4. RESULTADOS

Neste protocolo experimental todos os animais sobreviveram ao longo do tempo de observação até 180 dias. Não observou-se autotomia ou mutilação nos grupos de estudo neste mesmo período de tempo, bem como presença de infecção no local do procedimento cirúrgico.

### 4.1 Dia de retorno da flexão dos dedos do membro torácico

Nos grupos submetidos à sutura epiperineural término-terminal (SS) e a sutura epiperineural imediata aliviada (STA) a média e o e.p.m. do dia de retorno da função de flexão dos dedos do membro torácico foi de  $13,8 \pm 0,38$  e  $13,7 \pm 0,30$ , respectivamente (resultados não mostrados). Para o grupo submetido à sutura epiperineural imediata sob tensão (SST) não se observou tal efeito. Além disso, diferenças estatísticas significativas foram observadas entre os grupos SS, STA em relação ao grupo SST ( $P < 0,01$ ).

### 4.2 Teste de preensão (Grasping Test)

Os resultados obtidos demonstraram que no período de observação de 30 a 180 dias, houve aumento da função motora do nervo mediano conforme a avaliação funcional pelo Grasping Test nos animais dos grupos STA e SS quando comparados ao grupo controle (falso-operado). Os resultados ainda demonstraram que o aumento da recuperação funcional do nervo mediano ocorreu ao longo do período de 180 dias de observação (grupo SS: % de aumento em relação ao grupo controle (30 dias =  $29,50 \pm 0,7$ , 60 dias =  $53,46 \pm 1,4$ , 90 dias =  $59,58 \pm 0,53$ , 120 dias =  $78,43 \pm 0,7$ , 150 dias =  $91,15 \pm 0,9$  e 180 dias =  $91,25 \pm 0,8$ ) ( $P < 0,01$ ) (Figura 7). Em relação ao grupo STA foi também observado aumento importante da recuperação funcional do nervo mediano nos períodos de estudo (% de diferença em relação ao grupo controle (% de aumento 30 dias =  $14,81 \pm 4,5$ , 60 dias =  $52,60 \pm 0,8$ , 90 dias =  $58,66 \pm 1,5$ , 120 dias =  $72,68 \pm 3,73$ , 150 dias =  $99,78 \pm 0,05$ , e 180 dias =  $99,98 \pm 0,8$ ) ( $P < 0,01$ ) (Figura 8).

Neste protocolo, sob as mesmas condições experimentais o grupo SST não demonstrou qualquer recuperação funcional do nervo mediano nos períodos de 30 a 180 dias ( $P > 0,05$ ) (Figura 9).

É importante ainda salientar que nos grupos SS e STA o valor do percentual de aumento de recuperação do nervo mediano iniciou-se no 130 dia de pós-operatório, enquanto que no grupo SST o mesmo não foi observado em qualquer período de análise ( $P > 0,05$ ) (Figuras 7 e 8).

#### **4.3 Avaliação da recuperação da atrofia muscular do grupo flexo-pronador**

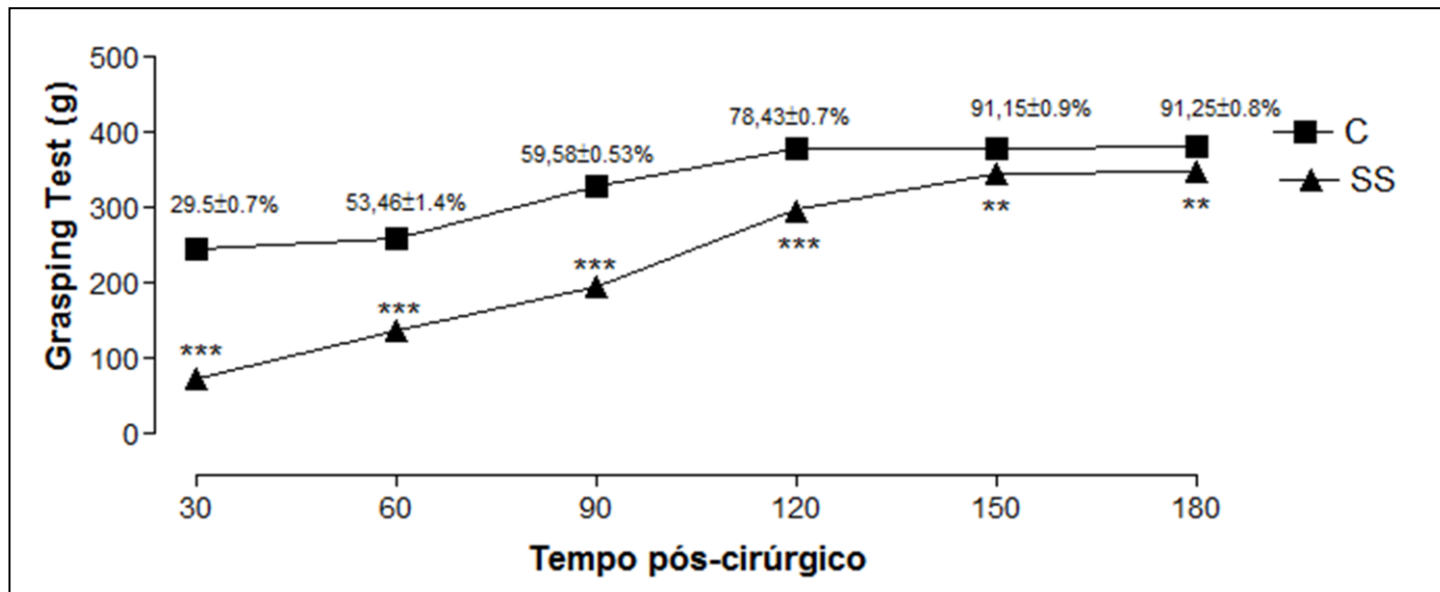
Os resultados demonstraram ainda diminuição significativa da atrofia da massa do grupo muscular flexo-pronador nos grupos SS e STA quando comparados ao grupo controle ( $C = 932 \pm 0,11$  mg,  $SS = 776 \pm 0,08$  mg,  $STA = 765 \pm 0,01$  mg, e  $SST = 531 \pm 0,001$  mg) ( $P < 0,01$ ). Não se observaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos SS e STA ( $P > 0,05$ ). A percentagem de recuperação da atrofia do grupo muscular flexo-pronador foi  $83,2\% \pm 0,1\%$  no grupo SS e  $82,1\% \pm 0,8\%$  para o grupo STA e  $56,9\% \pm 0,06\%$  para o grupo SST, respectivamente, quando comparados ao peso do grupo muscular do controle (falso-operado).

#### **4.4 Estudo da expressão do RNAm para neurotrofinas**

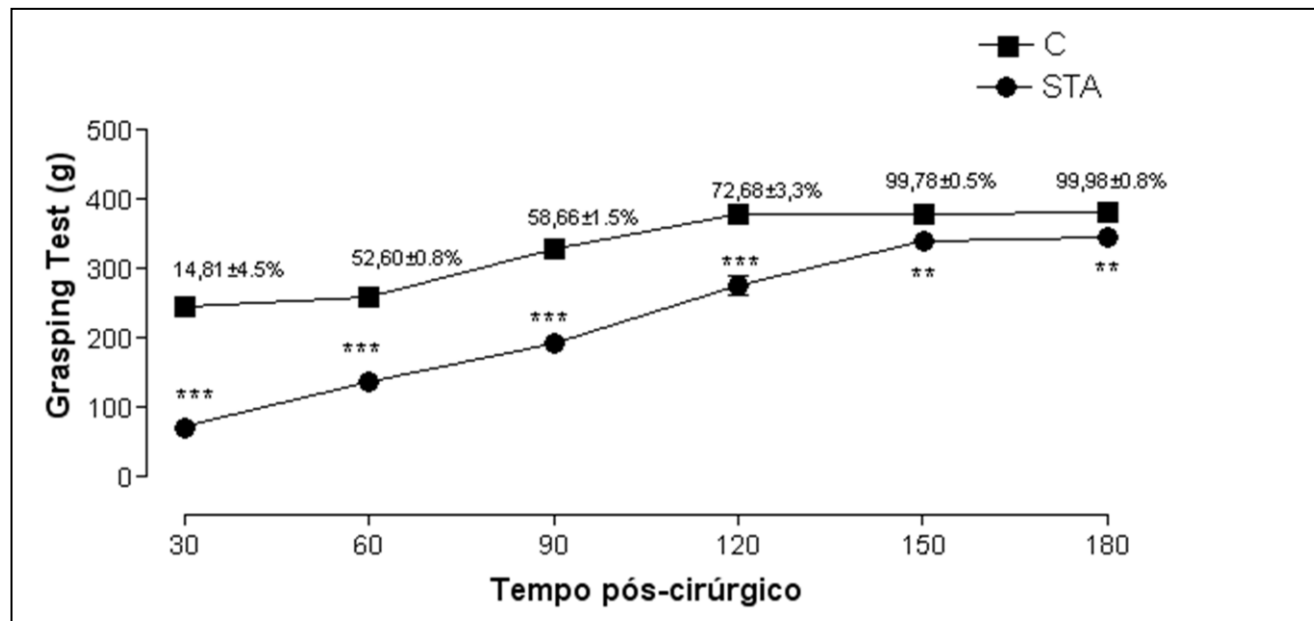
Uma vez observado que a análise da regeneração funcional do nervo mediano do rato Wistar utilizando-se Grasping Test foi melhor no tempo de 180 dias o próximo passo foi avaliar se esta recuperação estaria relacionada ao aumento de fatores de crescimento em nível local. Desta forma, no período de 180 dias foi analisada a expressão do RNAm para as neurotrofinas NGF e NT-3 no nervo mediano do rato Wistar.

Os resultados demonstraram que nos grupos SS e STA houve aumento significativo da expressão do RNAm para NGF e NT-3 no tempo de 180 dias pós cirurgia em comparação com o grupo controle (% de aumento da expressão do RNAm do NGF ( $SS = 114,4 \pm 15,7$ , e  $STA = 183,1 \pm 5,8$ ), e do NT-3 ( $SS = 102,4 \pm 6,6$ , e  $STA = 155,9 \pm 29,3$ )) ( $P < 0,01$ ) (Figura 9). Por outro lado não se observou aumento destas mesmas neurotrofinas no SST ( $P > 0,05$ ).

É importante ressaltar que os resultados revelaram que o aumento da expressão de RNAm para as neurotrofinas foi associado com o aumento da recuperação funcional do nervo mediano avaliado pelo Grasping Test.

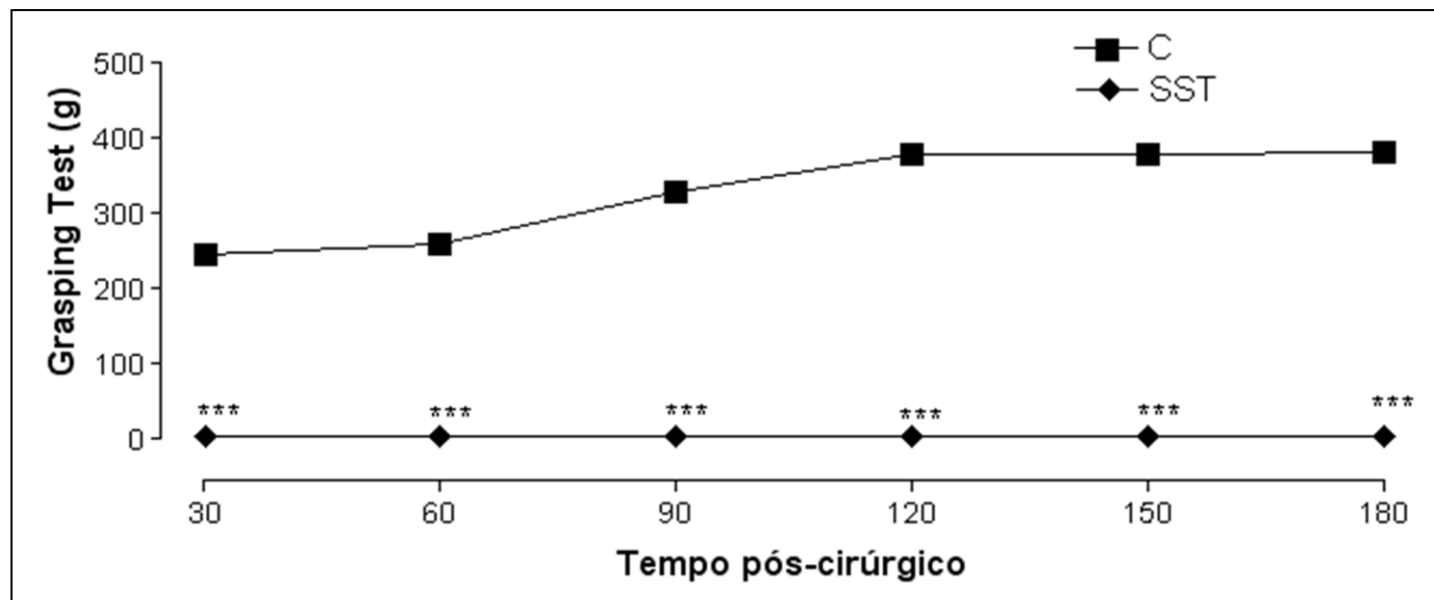


**Figura 7-** Demonstração do retorno da função do Teste de preensão (*Grasping test*) durante o período observacional de 30 a 180 dias do grupo sutura término-terminal imediato: SS. C = controle = falso-operado. Os valores mencionados no gráfico indicam o percentual de aumento da recuperação funcional do nervo mediano. N = 10 animais por grupo.

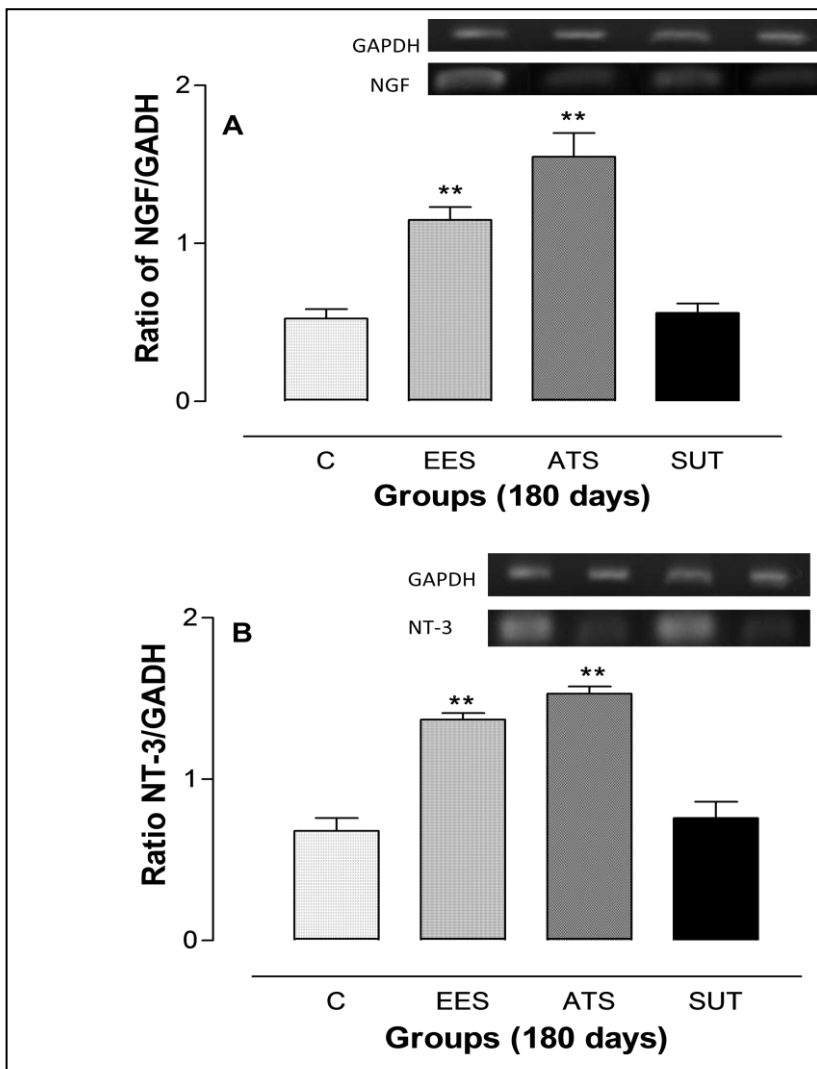


**Figura 8-** Demonstração do retorno da função do Teste de preensão (*Grasping test*) durante o período observacional de 30 a 180 dias do grupo sutura sob tensão aliviada: STA. C = controle = falso-operado. Os valores mencionados no gráfico indicam o percentual de aumento da recuperação funcional do nervo mediano. N = 10 animais por grupo.





**Figura 9-** Demonstração do retorno da função do Teste de preensão (*Grasping Test*) durante o período observacional de 30 a 180 dias do grupo sutura sob tensão: SST (C). C = controle = falso-operado. Os valores mencionados no gráfico indicam o percentual de aumento de aumento da recuperação funcional do nervo mediano. N = 10 animais por grupo.



**Figura 10-** Efeito dos diferentes procedimentos cirúrgicos (sutura término-terminal imediata: SS, sutura sob tensão aliviada: STA e sutura sob tensão: SST) na expressão do RNAm para NGF (A) e NT-3 (B). Os resultados foram calculados pela normalização da expressão de GAPDH. C = grupo controle = falso-operado. As inserções demonstram a intensidade das bandas de NGF e NT-3 detectadas e analisadas utilizando-se Photo-Capt image version 12.4 para Windows. N = 3 animais por grupo.



**2. CAPÍTULO 2 - TÍTULO: REPARO EPINEURAL  
UTILIZANDO TELA PARA A CORREÇÃO TARDIA DE  
LESÕES DO NERVO MEDIANO EM PACIENTES  
COM IDADE DE 42 a 57. RESULTADOS  
PRELIMINARES.**

## **1. DELINEAMENTO DO ESTUDO**

Estudo exploratório aberto intervencional controlado com alocação aleatória do procedimento cirúrgico realizado no Hospital Nossa Senhora da Conceição, Tubarão e Hospital Governador Celso Ramos, Florianópolis, Santa Catarina. Os desfechos foram aferidos cegadamente.

## **2. OBJETIVO**

Avaliar os resultados do reparo do nervo mediano comparando-se a enxertia de nervo sural e a utilização da técnica de sutura nervosa imediata sob tensão aliviada, por meio de suporte nervoso com tela de polipropileno externa aplicada aos cotos nervosos, de acordo com os princípios delineados por Saint-Venant.

## **3. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

### **3.1 Pacientes**

Doze pacientes, de ambos os sexos entre 42 e 57 anos de idade que apresentavam lesões em punho que afetaram o nervo mediano foram avaliados. Neste estudo foram escolhidos pacientes com esta idade, uma vez que apresentam pior prognóstico de regeneração nervosa.

A coleta de informações e o protocolo deste estudo foram aprovados pelo comitê de ética da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL). Todos os pacientes tiveram acesso prévio ao consentimento informado por escrito, seguindo o protocolo da Declaração de Helsinki<sup>93</sup> orientando pesquisas biomédicas envolvendo seres humanos. (<http://www.cirp.org/library/ethics/helsinki/>).

### **3.2 Critérios de categorização dos pacientes**

#### **Critérios de inclusão**

- Pacientes com lesões em punho que afetaram o nervo mediano.
- O intervalo de tempo entre a lesão e o procedimento cirúrgico reconstrutivo foi de até 6 meses pós-trauma

- Pacientes que permitiram a utilização de seus dados para as atividades de pesquisa. Neste caso o paciente ou responsável assinou o termo de consentimento livre e esclarecido que foi lido, pelo médico responsável, de forma detalhada no primeiro dia de entrevista do paciente ou responsável.

### **Critérios de não inclusão**

- Pacientes com idade inferior a 30 anos
- Pacientes com lesões de nervo mediano com mais de 24 meses de evolução
- Pacientes que não aceitaram assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.
- Em dois pacientes não foi possível utilizar a tela de polipropileno devido à limitação de mobilização dos cotos nervosos. Deste modo foi necessário utilizar-se a enxertia nervosa.
- Um paciente não foi avaliado

### **3.3 Procedimento cirúrgico**

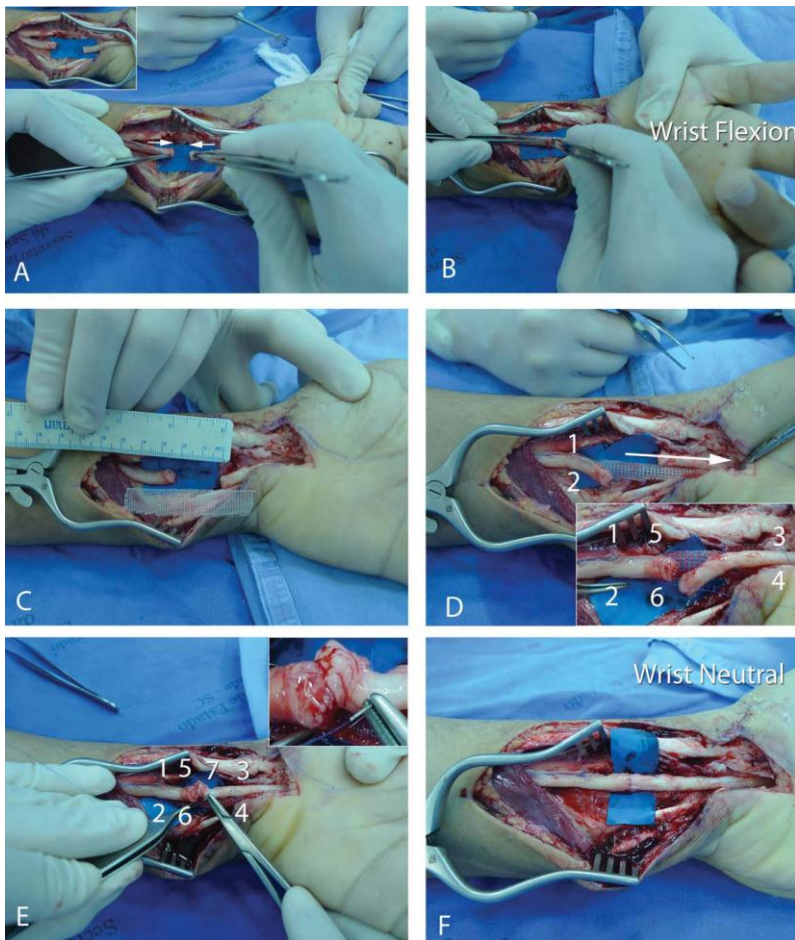
Durante o procedimento cirúrgico após regularizar suas bordas, o coto proximal do nervo mediano foi localizado, 8 cm proximalmente ao retináculo flexor do punho, em média. Os dados referentes aos pacientes estão resumidos nas Tabelas 2 e 3.

Quatro segmentos de nervos surais foram empregados em cada paciente, e a sutura epiperineural foi realizada com fio monofilamentar de nylon 9-0. Para o grupo de pacientes submetido ao procedimento de suporte nervoso externo com tela de polipropileno os cotos nervosos foram dissecados e regularizados (n = 6). Flexão de punho não maior que 30°. Neste procedimento cirúrgico foi utilizado um retângulo tela de polipropileno entrelaçado (Marlex® Ethicon, Somerville, NJ, EUA) de 1 cm de largura e 5 cm de comprimento que foi recortada, e suturada na face posterior do nervo mediano 2 a 3 cm proximalmente ao coto proximal do mesmo. Ainda utilizaram-se suturas com fios polipropileno 5-0 (Prolene® Ethicon, Somerville, NJ, EUA), abrangendo somente o epineuro.

Os cotos nervosos foram aproximados gradualmente, e a tela suturada 2 a 3 cm distalmente ao coto distal do nervo mediano. Suturas cirúrgicas adicionais foram realizadas 1 cm distantes dos cotos proximal e distal, reforçando deste modo a fixação do nervo mediano à tela. O ângulo de sutura aplicado foi direcionado ao sítio de coaptação nervosa, a fim de haver decréscimo da tensão no mesmo. Subsequentemente micro-suturas epiperineurais com fio monofilamentar de nylon 9-0 foram aplicadas, sob microscopia cirúrgica (Figuras 10).

O punho foi alinhado em posição neutra e o sítio de coaptação inspecionado sob microscopia cirúrgica para assegurar a integridade das suturas, pois qualquer sinal de estrangulamento epineural requer liberação ventral do epineuro. O punho foi imobilizado em 10° de flexão seguido ao fechamento da pele.

A movimentação ativa de dedos foi iniciada no primeiro dia de pós-operatório, e o punho foi imobilizado em posição neutra uma semana após. Na segunda semana de pós-operatório, a imobilização do punho foi removida e a extensão do punho foi iniciada.



**Figura 11-** Observação transoperatória do reparo do nervo mediano utilizando-se a tela de polipropileno de acordo com os princípios de Saint-Venant **(A)** Embora os cotos nervosos tenham sido liberados dos tecidos adjacentes e o punho mantido em posição neutra, os cotos nervosos não podem ser posicionados de maneira a obter afrontamento de bordos nervosos, **(B)** Com o punho fletido consegue-se o afrontamento parcial dos cotos nervosos, **(C)** Com o punho mantido em posição neutra percebe-se lacuna nervosa de 3 cm. A tela de polipropileno está adjacente aos cotos nervosos, **(D)** Após o ancoramento das suturas 1 e 2 ao epineuro do coto proximal a tela é mantida em tração distal contínua. Na sequência são aplicadas as suturas 3 e 6. **(E)** Na aplicação da última sutura percebe-se que a agulha transfixa distalmente a tela em relação ao nervo e proximalmente a tela de maneira a afrontar sem tensão os cotos nervosos utilizando-se suturas de nylon monofilamentar 9-0 com auxílio de microscopia ótica, **(F)** Finalização do procedimento cirúrgico.



Os pacientes foram acompanhados ambulatorialmente a cada 3 semanas e funções neurológicas e motoras aferidas após 12 e 18 meses, por um observador independente. A avaliação sensitiva foi conduzida utilizando-se monofilamentos de Semmes-Weinstein (Sorri®, Bauru, São Paulo, Brasil) na região da polpa digital distal do índice e polegares acometidos. Durante a avaliação o/a paciente sentou-se confortavelmente com o antebraço supinado e olhos cerrados. O início do teste foi realizado na região do terço médio-proximal do antebraço, em dermatomo nervoso indene, e imediatamente comparado à área lesada. A pele do polegar e indicador foi tocada gentilmente por um segundo e o paciente inquirido se percebeu o toque. Para evitar viés, a pergunta foi repetida nas mesmas condições, entretanto, sem que o avaliador tocasse na pele. O primeiro bastão de monofilamentos testado foi o de padrão de limiar sensitivo de 10 g, e sequencialmente 4, 2, 0,2 e 0,05 g. O monofilamento foi utilizado na sequência somente após percepção positiva do anterior. Para a resposta ser considerada positiva foi necessário 7 assertivas positivas entre 10 questionamentos. A inervação do abdutor curto do polegar foi aferida por meio da avaliação da recuperação da abdução do polegar e também pela palpação da região tenar do paciente.

#### **4. RESULTADOS**

Neste estudo não houve infecções ou extrusão da tela de polipropileno, em qualquer dos pacientes. As síndromes álgicas não foram evidentes nos grupos de enxertia ou de suporte nervoso externo. No período pós-operatório de 18 meses todos os pacientes submetidos ao procedimento com a tela de polipropileno recuperaram a sensibilidade mecanoreceptiva, em polegar e indicador, em oposição ao grupo de enxertia no qual um de quatro pacientes readquiriu esta função. Entretanto o limiar de sensibilidade deste grupo foi maior que o dos pacientes utilizando a tela de polipropileno. Nenhum paciente foi capaz de perceber o toque com monofilamento de 0,05 g, que corresponde à sensibilidade normal. Quando presente, a sensibilidade no polegar e indicador foi semelhante. No grupo de pacientes utilizando o suporte externo, 5 em 6 recuperaram a função do abdutor curto do polegar, com sinais ativos de contração, ao passo que no grupo de enxertia nervosa nenhum paciente obteve tal resultado (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2:** Aferição da força muscular e da sensibilidade do nervo mediano por meio da avaliação clínica dos pacientes submetidos á reconstrução nervosa com suporte epineural externo de polipropileno durante 18 meses.

Paciente	Idade (anos)	Idade (anos)	Intervalo (meses)	Cirurgia prévia	Lacuna do nervo	Lesão tendão	Força muscular	sensibilidade
1	42	42	4	Não	2,5 cm	Sim	Abd M4	0,2 g
2	45	45	6	Sim	3 cm	Sim	Abd M3	0,2 g
3	54	54	1	Não	3 cm	Sim	Abd M3	0,2 g
4	47	47	8	Não	2,5 cm	Não	Abd M4	2,0 g
5	48	48	5	Sim	3,5 cm	Não	Abd M4	0,2 g
6	55	55	3	Não	2,5 cm	Não	Abd M3	0,2 g

Abcd = abdutor curto do polegar, M = graduação de força muscular<sup>94</sup>

**Tabela 3:** Aferição da força muscular e da sensibilidade do nervo mediano por meio da avaliação clínica dos pacientes submetidos á reconstrução nervosa do nervo mediano com enxertia autóloga de nervo sural durante 18 meses.

Paciente	Idade (anos)	Intervalo (meses)	Cirurgia prévia	Lacuna nervo	Lesão tendão	Força Muscular	Sensibilidade
1	57	5	Não	5 cm	Não	Abd M0	10 g
2	44	6	Sim	5 cm	Sim	Abd M0	anest
3	45	9	Não	2,5 cm	Sim	Abd M0	anest
4	42	3	Não	3 cm	Não	Abd M0	anest
5	45	3	Não	3 cm	Não	Abd M2	4 g

Abcd = abdutor curto do polegar, M0 = graduação de força muscular<sup>94</sup>

## 5. DISCUSSÃO

O presente trabalho apresenta o resultado de dois estudos investigando inicialmente em nível experimental o efeito de diferentes tipos de sutura (sutura epiperineural término-terminal imediata: SS, sutura epiperineural sob tensão aliviada: STA e sutura epiperineural sob tensão: SST) na recuperação da função do nervo mediano, em ratos Wistar. Estes resultados demonstraram por meio da análise do dia de recuperação de flexão dos dedos do membro torácico, desempenho no Grasping Test, e recuperação da atrofia do grupo muscular flexo-pronador nos grupos de sutura término-terminal (SS) e sutura sob tensão aliviada (STA). No entanto aqueles submetidos à sutura sob tensão (SST) não apresentaram nenhum sinal de recuperação funcional do nervo mediano do rato Wistar após neurotmeze.

No segundo estudo pacientes foram submetidos à técnica de sutura sob tensão aliviada (STA) com a tela de polipropileno (n = 6) e um grupo de pacientes submetido à enxertia nervosa (n = 6). O nervo mediano foi objeto destas reconstruções. Neste estudo clínico observou-se a superioridade do retorno da sensibilidade, bem como da força de preensão do abdutor curto do polegar nos pacientes submetidos à reconstrução cirúrgica com a técnica da sutura sob tensão aliviada (STA) após 12 e 18 meses de acompanhamento pós-cirúrgico. Estes resultados são importantes uma vez que demonstram: 1) estudos experimentais prévios são importantes para que possam ser corroborados em seres humanos; 2) a utilização da técnica de sutura sob tensão aliviada, utilizando-se a tela de polipropileno parece ser uma alternativa viável para a reconstrução do nervo mediano quando comparado à enxertia nervosa autóloga.

As características estruturais de tecidos como músculos, ligamentos e nervos têm sido estudadas há várias décadas. Os nervos periféricos possuem propriedades viscoelásticas que os tornam peculiares em suas características de regeneração.<sup>10,20,95-99</sup>

O nervo periférico deve ser resiliente para resistir aos movimentos de flexo-extensão, quando cruza articulações, e ser suficientemente resistente para suportar as forças de tração incomuns impostas pelos traumas.

Um dos fatores causais mais importantes na fisiopatologia da lesão dos nervos periféricos é a interrupção do fluxo sanguíneo intraneural, inibindo o transporte axonal retrógrado, mantenedor da funcionalidade nervosa.<sup>98</sup>

O aspecto mais importante ao reconstruírem-se lesões de nervos periféricos com perdas segmentares, impedindo a coaptação direta, é determinar o tamanho da lacuna existente a ser preenchida, com a enxertia nervosa.

Millesi<sup>52</sup> defende o conceito que em lacunas nervosas superiores a 2,5 cm o reparo da lesão deverá utilizar enxertia nervosa impreterivelmente, ao invés de realizar-se coaptação sob tensão. O tamanho da lacuna nervosa a ser preenchida com enxertia autóloga ainda é controverso, e há uma tendência corrente de corrigir defeitos nervosos inferiores a 2,5 cm com enxertia nervosa.<sup>96</sup>

de Medinaceli<sup>82</sup>, em 1991 foi o precursor da introdução do conceito de Saint Venant, que consiste em distribuir as forças de tensão resultantes da coaptação de cotos nervosos. Isto é realizado aplicando-se suturas de ancoragem ao redor do nervo, distribuindo a tensão homogeneamente, na superfície do nervo, ao invés do sítio de coaptação nervosa.

A técnica cirúrgica proposta é a utilização do arcabouço entremeado de polipropileno não somente como suporte externo, no sítio de coaptação nervosa, mas para permitir que os cotos nervosos sejam tracionados progressivamente e deste modo afrontados. Assim, é possível afrontar cotos nervosos que de outra maneira seriam submetidos à reconstrução nervosa somente com a utilização de enxertia nervosa, ou submetendo o sítio de coaptação a forças tensionais excessivas e deletérias. Isto é realizado pela aplicação de suturas de ancoragem oblíqua e distalmente aos cotos nervosos.

Estes resultados demonstraram, por meio da análise do dia de recuperação de flexão dos dedos do membro torácico, desempenho no Grasping Test, e recuperação da atrofia do grupo muscular flexo-pronador e que os grupos de sutura término-terminal (SS) e sutura sob tensão aliviada (STA) tiveram desempenho semelhante na recuperação funcional do nervo mediano do rato Wistar.

Em relação mais especificamente ao procedimento realizado utilizando-se a sutura término-terminal imediata (SS), é importante relatar que trabalhos revelaram que a utilização desta sutura obtém melhores resultados que a enxertia nervosa, e que a coaptação nervosa realizada sob tensão não promove a regeneração de nervos periféricos.<sup>17,54,99-102</sup>

Os resultados da enxertia nervosa são superiores à sutura sob tensão, mas ainda inferiores aos resultados obtidos com a sutura imediata epiperineural término-terminal, como demonstrado por Birch et AL., em 1991.<sup>103</sup>

Quanto ao grupo de animais submetidos à sutura sob tensão aliviada (STA), o conceito da sutura sob tensão aliviada foi utilizado por Hentz que em 1993<sup>39</sup>, estudou em primatas a lacuna nervosa a ser preenchida em perdas nervosas segmentares de nervos. O reparo epineural de uma lacuna de 15 mm foi reconstruído sob tensão, utilizando-se duas técnicas cirúrgicas distintas: a sutura microcirúrgica direta, e a enxertia interfascicular denominada entubulação fascicular, com uma membrana de colágeno como substrato, em forma de tubo. Os resultados foram similares, embora o diâmetro dos axônios fosse superior no grupo da entubulação nervosa.

Hass, em 1996<sup>104</sup>, ainda demonstrou que as bandas de polidioxanona aplicadas lateralmente aos nervos mediano e ulnar através de suturas epineurais, comportaram-se como dispositivo de alívio de tensão no sítio de coaptação protegendo a sutura nervosa. Este estudo sugeriu que lacunas maiores de 3 cm devam ser corrigidas com enxertia nervosa.

Schmidhammer, em 2004<sup>81</sup>, demonstrou resultados positivos na regeneração nervosa, com mobilização precoce ativa, e utilizando tubos de silicone para a redução das forças tensionais no sítio da coaptação nervosa, no modelo de transecção do nervo ciático, em ratos. Este experimento não envolveu perdas nervosas segmentares, e o aparato foi aplicado após a realização das suturas microcirúrgicas.

Yamada e colaboradores, em 2004<sup>42</sup>, também utilizaram a transecção do nervo ciático, em ratos, comparando-se suturas término-terminais após submeter os nervos a alongamentos seriados, a enxertias nervosas autólogas e reportou que o grau de regeneração do grupo submetido ao alongamento nervoso, foi superior ao grupo submetido à enxertia nervosa. Naquele estudo os parâmetros utilizados foram avaliações eletrofisiológicas e histológicas. Os resultados demonstraram não haver diferenças significantes no coto nervoso distal ao exame histológico.

Outros estudos também revelaram os efeitos deletérios da reconstrução cirúrgica de nervos periféricos quando submetidos à tensão. Dentre eles destacam-se os estudos experimentais que investigaram os limites de estiramento do tecido nervoso, bem como suas consequências funcionais. Os valores avaliados nestes estudos foram extremamente variáveis: de 8%, 16%, 25% chegando até 100% de estiramento<sup>98,105, 106, 108</sup>.

Os estudos realizados por Lundborg e Rydevik, em 1973<sup>98</sup>, demonstraram que o estiramento do nervo tibial do coelho com valores de 8% promoveram decréscimo de fluxo sanguíneo nervoso em 50%

quando comparados a grupos controles. Estes resultados foram corroborados com Ogata e Naito, em 1986<sup>108</sup>, no modelo do nervo ciático de coelho.

Sunderland em 1978<sup>11</sup> sugeriu que as propriedades viscoelásticas são devidas ao suporte dos tecidos conjuntivos elementares do nervo, do perineuro, epineuro e endoneuro.

Rydevik e colaboradores, em 1990<sup>105</sup>, evidenciaram que ocorre falha mecânica no reparo do tecido nervoso após estiramento do mesmo em 16% do seu comprimento inicial em repouso. Morfologicamente, estresses elevados condicionam os axônios e tecido conjuntivo adjacentes a serem reorientados em direção da carga tensional exercida. Dados biomecânicos obtidos por estes mesmos autores demonstraram que, em pequenos estiramentos, o nervo é bastante complacente, ao passo que tensões elevadas cursam com reorientação de axônios e tecido conjuntivo adjacentes em direção ao vetor da tensão resultante.<sup>105</sup>

Haftek em 1970<sup>109</sup> e Rydevik e colaboradores, em 1990<sup>105</sup> investigaram as respostas morfológicas do nervo periférico quando submetido à tensão, demonstrando desorganização axonal e ruptura do tecido conjuntivo circunjacente quando a tensão exercida ultrapassa o limite de tensão viscoelástica do nervo.

Em 1991, Wall e colaboradores<sup>20</sup> demonstraram, em estudo experimental, que após uma hora de estiramento o nervo tem um relaxamento de até 45% do seu tamanho prévio, demonstrando desta forma que os nervos periféricos são altamente viscoelásticos. Estes mesmos autores evidenciaram em 1992<sup>110</sup> que do ponto de vista fisiológico mesmo estiramentos da ordem de 6 a 12 % do tamanho inicial do nervo em situações agudas já causam lesões à condução nervosa.

Outros investigadores utilizando o modelo de estiramento do nervo ciático, em coelhos avaliaram os efeitos da tensão em nervos periféricos utilizando testes eletrofisiológicos e morfológicos.<sup>95,111,112</sup> Os autores concluíram que o estiramento, em 6% após 60 min diminuiu o potencial de ação do nervo em 40%. Removida a tração, o nervo ciático obteve recuperação completa. Quando o estiramento do mesmo nervo foi da ordem de 12%, após 60 min o potencial de ação do nervo foi extinto. Após a remoção da tensão, houve perda de 60% do potencial de ação do nervo ciático.<sup>95</sup> Takai e colaboradores, em 2002<sup>112</sup>, utilizando também o modelo experimental de nervo ciático, em ratos reportaram que as tensões de estiramento do nervo da ordem de 8,1% causaram bloqueio de condução nervosa completa após 10 min, e posteriormente ao relaxamento houve retorno funcional de 92%. Myiamoto e

colaboradores, em 1979<sup>113</sup> revelaram que há uma variação individual importante na tensão gerada por uma lacuna segmentar de um nervo periférico lesado. Além disso, ocorre um acréscimo exponencial da tensão nos cotos seccionados, à medida que o tamanho do segmento nervoso a ser coaptado aumenta.<sup>113,114</sup>

Ao agregar-se os resultados de trabalhos envolvendo estiramento tensional de nervos periféricos há um consenso de que o limite para não haver dano neurológico não deva ultrapassar os 10% do tamanho inicial do nervo periférico em repouso. Quando os valores do estiramento são da ordem de 20% do tamanho inicial, há lesão neurológica indubitável, e ruptura de fascículos e lâmina basal.<sup>115</sup>

O reparo de hérnias inguinais por via laparoscópica ou aberta é um dos procedimentos cirúrgicos eletivos mais comuns realizados em cirurgia geral, utilizando-se a tela de polipropileno, entremeada.<sup>116</sup> Existem problemas correlatos ao uso de telas de polipropileno, como o encarceramento de nervos nos tecidos circunjacentes, em consequência da fibrose decorrente<sup>117</sup>. Em nossos experimentos não identificamos complicações com a utilização da tela de polipropileno, nem decréscimo da função do nervo mediano do rato Wistar. Além disso, nossos resultados evidenciaram ainda que as dosagens da expressão do RNAm para as neurotrofinas NT-3 e fator de crescimento de nervos (NGF) encontravam-se elevadas no nervo mediano dos animais submetidos aos procedimentos de sutura término-terminal imediata (SS) e sutura sob tensão aliviada (STA), quando comparados ao grupo de sutura sob tensão (SST). A síntese de proteínas de neurotrofinas envolvidas na regeneração do nervo mediano parece estar ativa nos grupos STA e SS mesmo após 180 dias de pós-operatório. Estes achados foram correlacionados com uma recuperação funcional efetiva do nervo mediano observando-se os resultados dos testes funcionais.

As neurotrofinas coordenam tanto da morte quanto da sobrevivência celular por meio da ativação de receptores específicos como os receptores do tipo Trk e neurotrofina p75. Evidências apontam que as neurotrofinas são produzidas inclusive por células não-neuronais, como leucócitos, osteoblastos, ou fibroblastos.<sup>19,118</sup>

Nossos resultados estão em acordo com estudos que demonstraram que o NT-3 e o NGF são importantes agentes na sobrevivência e na regeneração das células de Schwann e na mielinização do SNC e SNP<sup>85,86,119</sup>. Piirsoo e colaboradores, em 2010<sup>88</sup> demonstraram em estudos in vitro utilizando-se células de Schwann a importância do NGF na regeneração do SNP.



Sun e colaboradores, em 2009<sup>120</sup> evidenciaram a adesão do NGF à laminina, um componente importante da matriz nervosa extracelular, na regeneração do nervo ciático submetidos ao esmagamento de ratos.

Ainda relacionado à neurotrofina NT-3, Dong and Cheng 2009<sup>121</sup> demonstraram que o NT-3 promoveu acréscimo significativo na amplitude e velocidade de condução potencial de ação de nervo, no número e diâmetro dos axônios, nas fibras nervosas, no modelo de axotomia do nervo ciático, em ratos. Em estudo experimental semelhante, Sahenk et al.<sup>86</sup> evidenciaram que a neurotrofina NT-3 foi associada à regeneração e a remielinização de fibras nervosas.

Na tentativa de validarmos o procedimento cirúrgico utilizando-se a sutura sob tensão aliviada (SSA) realizado com sucesso, nos ratos, a próxima etapa foi verificar se o mesmo procedimento seria factível de ser utilizado em seres humanos. Para este fim, avaliamos 11 pacientes com lesões de nervos medianos, com idades acima de 40 anos. Em seis destes pacientes a reconstrução consistiu de sutura sob tensão aliviada utilizando-se a tela de polipropileno. Nos outros 5 pacientes foram realizados enxertos interfasciculares com nervo sural.

Os resultados preliminares deste grupo em reparos secundários do nervo mediano em pacientes com idades superiores há 40 anos, demonstraram uma superioridade na recuperação funcional do nervo mediano do grupo utilizando-se a tela de polipropileno quando comparados ao grupo submetido à enxertia nervosa.

Os resultados da recuperação do nervo mediano do grupo submetido à enxertia nervosa foram inferiores aos do grupo de pacientes submetidos à reconexão nervosa utilizando-se a tela de polipropileno, e isso pode ser devido ao fato que os pacientes envolvidos no estudo são senescentes, e a idade é um fator de pior prognóstico na regeneração de nervos periféricos.<sup>51,122</sup>

Outro aspecto importante é o de que o período de acompanhamento pós-operatório foi limitado, visto que a regeneração de nervos permanece ativa até 5 anos após a reconexão nervosa.<sup>71</sup>

Antigamente, cirurgiões suturavam o neuroma (coto proximal) ao glioma (coto distal) aproximando-os graças à flexão de todas as articulações adjacentes. No período pós-operatório, as articulações eram gradualmente estendidas, deste modo estirando lentamente o nervo lesado. Posteriormente os pacientes eram reoperados, e o neuroma e glioma ressecados, deste modo coaptando os remanescentes diretamente. A experiência obtida com os alongamentos de membros

demonstrou que os nervos podem ser alongados lentamente, sem prejuízo neural.<sup>80</sup>

Millesi<sup>123</sup> em 2006 demonstrou que a falha do reparo nervoso era devido à ruptura da coaptação nervosa, pela tensão resultante na mobilização ativa do membro operado no período pós-operatório.

A utilização da tela de polipropileno como um arcabouço de suporte epineural externo, no grupo experimental submetido à sutura sob tensão aliviada (STA) é uma alternativa válida na correção de falhas segmentares nervosas, evitando o uso de enxertos nervosos. O grupo de animais submetidos a reconstrução nervosa sob tensão (SST) não demonstrou nenhum sinal de regeneração nervosa de acordo com os critérios avaliados. Estes resultados são corroborados pelo estudo realizado em humanos no qual evidenciamos que os pacientes submetidos à correção cirúrgica utilizando-se a tela de polipropileno apresentaram resultado funcional superior quando comparados ao grupo de pacientes submetidos à enxertia nervosa, em lesões do nervo mediano. Apesar de utilizarmos poucos pacientes os resultados demonstraram que o reparo direto da lesão com sutura término-terminal sob tensão aliviada ainda é a melhor opção para a reconstrução de nervos lesados quando comparados os resultados da enxertia nervosa. Os pacientes desta série já se encontravam na fase de cronicidade, e é conhecido que o tempo entre a lesão e a reconstrução cirúrgica é crítica em relação aos resultados obtidos nas cirurgias reconstrutivas de nervos periféricos.<sup>124</sup>

O fator principal do sucesso deste novo procedimento que faz uso da tela de polipropileno é a aderência aos princípios preconizados por de Medinacelli (1991), utilizando-se dos postulados emanados por Saint-Venant. Esta técnica apresenta ainda a vantagem de não necessitar utilizar-se enxertias de nervos com as comorbidades inerentes a este procedimento.

Futuros estudos com número maior de pacientes utilizando-se estas mesmas técnicas cirúrgicas devem ser realizados para o melhor entendimento do mecanismo fisiológico da regeneração de nervos e para a utilização destes procedimentos cirúrgicos que possam beneficiar a conduta médica, bem como a melhoria na recuperação funcional dos pacientes portadores de lesões de nervos periféricos.



## **6. CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos preliminarmente em estudos pré clínicos e corroborados em seres humanos pelo qual demonstram efetiva recuperação motora e sensitiva do nervo mediano, ao utilizar-se a tela de polipropileno, deste modo apresentando-se como alternativa ao enxerto autólogo, em perdas nervosas segmentares.



## 7. REFERÊNCIAS

1. Bruyns CNP, Jaquet J-B, Schreuders AR, Kalmjin S, Kuypers PDL, Hovius SER. Predictors for return to work in patients with median and ulnar nerve injuries. *J Hand Surg* 2003;28:28-34.
2. Lundborg G, Rosén B. Sensory relearning after nerve repair. *Lancet* 2001;358:809-10.
3. Ijkema-Paassen J, Jasen K, Gramsbergen A, Meek MF. Transection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation. *Biomaterials* 2004;25(9):1583-92.
4. Millesi H. Technique of peripheral nerve repair. "The Hand, R.Tubiana ed, Volume III, Philadelphia ,W.B. Saunders Company 1988;557-78.
5. Chen R, Cohen GL, Hallet M. Nervous system reorganization following injury. *Neuroscience* 2002;111:761-73.
6. Wall JT, Xu J, Wang X. Human brain plasticity: an emerging view of the multiple substrates and mechanisms that cause cortical changes and related sensory dysfunctions after injuries of sensory inputs from the body. *Brain Res Rev* 2002;39:181-215.
7. Asplund M, Nilsson M, Jacobsson A, von Holst H. Incidence of traumatic peripheral nerve injuries and amputations in Sweden between 1998 and 2006. *Neuroepidemiology* 2009;32(3):217-28.
8. Hoxie SC, Capo JA, Dennison DG, Shin AY. The economic impact of electric saw injuries to the hand. *J Hand Surg Am* 2009;34(5):886-9.
9. Yi-Shiung H, Ming-Chuan L, Chi-Tzu F, Chi-Hung H, Hsin-Chi W, Jung-Der W. Responsiveness of the Michigan Hand Outcomes Questionnaire and the Disabilities of the Arm, Shoulder, and Hand Questionnaire in Patients With Hand Injury. *J Hand Surg* 2010; 35(3):430-36
10. Sunderland S, Bradley KC. Stress-strain phenomena in human peripheral nerve trunks. *Brain* 1961;84:102-19.

11. Sunderland S. Nerves and Injuries, Edinburgh: Churchill and Livingstone, 1978.
12. Nguyen QT, Sanes JR, Lichtman JW. Pre- existing pathways promote precise projection patterns. *Nat Neurosc* 2002;5:861-67.
13. Toba T, Nakamura T, Matsumoto K, Shimizu Y. Long term evaluation of regeneration along canine peroneal nerve using a polyglycolic acid (PGA) – collagen nerve conduits filled with collagen fibers. *Artif Organs* 2003;27:368-73.
14. Lorezon P, Krarup C, Schmalbruch H. Regeneration of unmyelinated and myelinated sensory nerve fibers studied by a retrograde tracer method. *J Neurosc Methods* 2004;138: 225-32.
15. Aldskogius H, Risling M. Effect of sciatic neurectomy on neuronal number and size distribution in the L7 ganglion of kittens. *Exp Neurol* 1981;74(2):597-604
16. Brushart TM, Seiler WA. Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. *Exp Neurol* 1987;97:289-300.
17. Lundborg G. A 25 year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg* 2000;25(A): 391-414.
18. Akaglassou K, Akpinar P, Murray S, Strickland S. Fibrin is regulator of Schwann cell migration after sciatic nerve injury in mice. *Neurosci Letters* 2002; 338:185-88.
19. Zhang F., Insera M, Richards L, Terris DJ, Lineaweaver WC. Quantification of nerve tension after nerve repair: Correlations with nerve defects and nerve regeneration, *J Reconstr Microsurg* 2001;17:445–51.
20. Wall EJ, Kwan MK, Rydevik BL, Woo SLY, Garfin SR. Stress relaxation of a peripheral nerve. *J Hand Surg Am* 1991;16A: 859-63.
21. Torigoe K, Tanaka HF, Takahashi A, Awaya A, Hashimoto K. Basic behavior of migratory Schwann cells in peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol* 1996;137:3.

22. Pui Ng W, Lozano AM. Neuronal age influences the response to neurite outgrowth inhibitory activity in the central and peripheral nervous systems. *Brain Res* 1999;836:49-61.
23. Hua J, Kumar V, Tay S, Pereira B. Microscopic changes at the neuromuscular junction in free muscle transfer. *Clin Orthop* 2003;411:325-33.
24. Feringa ER, Lee GW, Vahlsing HL, Gilbertie WJ. Cell death in the adult rat dorsal root ganglion after hind limb amputation, spinal cord transection, or both operations. *Exp Neurol* 1985;87:349-57.
25. Rafuse VF, Polo-Parada L, Landmesser T. Structural and functional alterations of neuromuscular junctions in NCAM- deficient mice. *J Neurosci* 2000;20:6529-39.
26. Keskin M, Akbas H, Uysal O, Canan S, Ayyildiz M, Agar E, Kaplan S. Enhancement of nerve regeneration and orientation across a gap with nerve graft within a vein conduit graft: a functional, stereological and electrophysiological study. *Plast Reconstr Surg* 2004;113: 1372-79.
27. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987;237:1154-62.
28. Terenghi G, Calder JS, Birch R, Hall SM. A morphological study of Schwann cells and axonal regeneration in chronically transected human peripheral nerves. *J Hand Surg* 1998; 23:583-87.
29. Beer G, Burg D, Zehnder A, Seifert B, Steurer M, Grimaldi H, Meyer V. Functional, electrophysiologic , and morphometric evaluation of nerve regeneration from coaptation of regenerated nerve fibers: experimental study in rabbits. *J Reconstr Microsurg* 2004; 20(2):159-66.
30. Merzenich MM, Kaas JH, Wall J, Nelson RJ, Sur M, Felleman D. Topographic reorganization of somatosensory cortical areas 3b and 1 in adult monkeys following restricted deafferentation. *Neuroscience* 1983;8:33-55.
31. Ogün TC, Özdemir M, Senaran H, Üstün ME. End-to-side neurorrhaphy as a salvage procedure for irreparable nerve injuries. *J Neurosurg* 2003;99(1):180-5.32. Hayashi A, Yanai A, Komuro Y,



- Nishida M, Inoue M, Seki T. Collateral sprouting occurs following end-to-side neuroorrhaphy. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:29.
33. Tucker BA, Mearow KM. Peripheral sensory axon growth: from receptor binding to cellular signaling. *Can J Neurol Sci* 2008;35(5):551-66.
34. Albanese A, Bentivoglio M. Retrograde fluorescent neuronal tracing combined with acetylcholinesterase histochemistry *J Neurosci Methods* 1982;6:121-27.
35. Szabolcz MJ, Windisch A, Koller R, Pensch M. Axon typing of rat muscle nerves using a double staining procedure for cholinesterase and carbonic anhydrase. *J Histochem Cytochem* 1991;39:1617-25.
36. Frostick MA, Qy Y, Graham JK. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 1998;18:397-405.
37. Rusovan A, Kanje M. Stimulation of regeneration of the rat sciatic nerve by 50 hz sinusoidal magnetic field. *Exp Neurol* 1991;112:12-16.
38. Mackinnon SE, Dellon AL. *Surgery of the peripheral nerve*. New York: Thieme Medical Publishers, 1988.
39. Hentz VR, Rosen JM, Xiao SJ, McGill KC, Abraham G. The nerve gap dilemma: a comparison of nerves repaired end to end under tension with nerve grafts in a primate model. *J Hand Surg Am* 1993;18(3):417-25
40. Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Methods* 1995;58:151-55.
41. Jansen JA. Animal models for tissue engineering applications. *Ed Biomaterials* 2004;9:1461.
42. Yamada Y, Shimizu K, Nitta A, Soumiya H, Fukumitsu H, Furukawa S. Axonal regrowth downregulates the synthesis of glial cell line-derived neurotrophic factor in the lesioned rat sciatic nerve. *Neuros Let* 2004;364:11-5.

43. Terzis J, Faibisoff B, Williams B. The nerve gap: suture under tension vs graft. *Plast Reconstr Surg* 1975; 56: 166-70.
44. Addas BM, Midha R. Nerve transfers for severe nerve injury. *Neurosurg Clin N Am* 2009;20:27-38.
45. Meek MF, Van der Werff JF, Klok F, Robison PH, Nicolai J-PA, Gramsbergen A. Functional nerve recovery after bridging a 15 mm gap in rat sciatic nerve with a biodegradable nerve guide. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2003;37:258-65.
46. Grant GA, Goodkin R, Kliot M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. *Neurosurgery* 1999;44(4):825-39.
47. Nehme A, Kany J, Sales-de-Gauzy J, Charlet JP, Dautel G, Cahuzac JP. Obstetrical brachial plexus palsy. Prediction of outcome in upper root injuries. *J Hand Surg* 2002;27 (B):9-12.
48. Haidar SG, Kumar D, Bassi S, Desmukh SC. Average versus maximum grip strength : which is more consistent? *J Hand Surg* 2004;29 (B):82-4.
49. Merzenich MM, Jenkins WM. Reorganization of cortical representations of the hand following alterations of skin inputs induced by nerve injury, skin island transfers, and experience. *J Hand Ther* 1993;6:89-104.
50. Gustaffson M, Amilon A, Ahlström G. Trauma- related distress and mood disorders in the early stage of an acute traumatic hand injury. *J Hand Surg* 2003;28:332-38.
51. Clavijo-Alvarez JA, Nguyen VT, Santiago LY, Doctor JS, Lee WP, Marra KG. Comparison of biodegradable conduits within aged rat sciatic nerve defects. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:1839-51.
52. Millesi H, Meissl G, Berger A. Further experience with interfascicular grafting of the median, ulnar , and radial nerves. *J Bone Joint Surg* 1976; 58:209-18.

53. Munro CA, Szalai JP, Mackinnon SE, Midha R. Lack of association between outcome measures of nerve regeneration. *Musc Nerve* 1998; 21: 1095-97.
54. Millesi H, Meissl G, Berger A. The interfascicular nerve-grafting of the median and ulnar nerves. *J Bone Joint Surg Am* 1972;54:727-50.
55. Lee P, Zhuo H, Helke CJ. Axotomy alters neurotrophin and neurotrophin receptor mRNAs in the vagus nerve and nodose ganglion of the rat. *Brain Res Mol Brain Res* 2001;87:31-41.
56. Abe I, Hara Y, Nishiura Y, Ochiai N. The morphologic characteristics of nerve shortening following traumatic bone loss. *J Orthop Res* 2009;27(4):472-6.
57. Navarro X. Neural plasticity after nerve injury and regeneration. *Int Rev Neurobiol* 304 2009;87:483–505.
58. Birch R, Bonney G, Wynn Parry CB. Surgical disorders of peripheral the nerves. Edinburgh:Churchill Livingstone,1998.
59. Bertelli JA, Santos ARS, Taleb M, Calixto JB, Mira JC, Ghizoni MF. Long interpositional graft consistently induces incomplete motor and sensory recovery in the rat. An experimental model to test nerve repair. *J Neurosci Methods* 2004;134:75-80.
60. Brushart TM, Henry EW, Mesulam M. Reorganization of muscle afferent projections accompanies peripheral nerve regeneration. *Neuroscience* 1981;6:2053-2057.
61. Danielsen N, Kerns JM, Holmquist B, Zhao Q, Lundborg G, Kanje M. Predegeneration enhances regeneration into acellular nerve grafts. *Brain Res* 1995;681:105-8.
62. Suzuki Y, Tanihara M, Ohnishi K, Suzuki K, Endo K, Nishimura Y. Cat peripheral nerve regeneration across 50 mm gap repaired with a novel nerve guide composed of freeze dried alginate gel. *Neurosc Lett* 1999;259:75-8.
63. Burden SJ. The formation of neuromuscular synapses. *Genes Dev* 1998;12:133-48.

64. Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I, Nakano H, Li Y-J, Kaneda S, Sorimachi Y, Yoshimoto K, Yasuhara M, Totsuka T. A possible role for BDNF, NT-4, and TrkB in the spinal cord and muscle of rat subjected to mechanical overload, bupivacaine injection and axotomy. *Brain Res* 2001;907:1-19.
65. Aszmann O, Korak KJ, Rab M, Grünbeck M, Lassmann H, Frey M. Neuroma prevention by end-to-side neurotaphy: an experimental study in rats. *J Hand Surg* 2003; 28:1022-28.
66. Yoshi S, Oka M, Shima M, Taniguchi A, Akagi M. 30 mm regeneration of sciatic nerve along collagen filaments. *Brain Res* 2002;949:202-08.
67. Kobayashi H, Shinomiya AK, Tanaka J. Hydroxyapatite coated tendon chitosan tubes with adsorbed laminin peptides facilitate nerve regeneration in vivo. *Brain Res* 2003; 93: 111-23.
68. Zhang J, Lineaweaver WC, Oswald T, Chen Z, Zhang F. Ciliary neurotrophic factor for acceleration of peripheral nerve regeneration: an experimental study. *J Reconstr Micros* 2004;20:323-27.
69. Vodouhê C, Schmittbuhl M, Boumedais F, Bagnard D, Vautier D, Schaaf P, Egles C, Voegel JC, Ogier J. Effects of multilayered polyelectrolyte films on motoneuron growth. *Biomaterials* 2005;26:545-54.
70. Urabe T, Zhao Q, Lundborg G, Danielsen L. Effects of delayed nerve repair on regeneration of rat sciatic nerve. *Rest Neurol Neurosc* 1995;9:1-5.
71. Rosén B, Lundborg G. The long term recovery curve in adults after median or ulnar nerve repairs: a reference interval. *J Hand Surg* 2001;26:196-200.
72. Goettl V, Neff NH, Hadjiconstantinou M. Sciatic nerve axotomy in aged rats: response of motoneurons and the effect of GM 1 ganglioside treatment. *Brain Res* 2003;968:44-53.
73. Smith JW. Microsurgery: Review of the literature and discussion of microtechniques. *Plastic Reconstr Surg* 1966;37:227-45.

74. Haskian RW. Funicular orientation by direct stimulation. An aid to peripheral nerve repair. *J Bone Joint Surg* 1968;50:1178-86.
75. Jaber FM, Abbas BP, Nezhad ST, Tanideh N. End-to-side neurorrhaphy: an experimental study in rabbits. *Microsurgery* 2003;23(4):359-62.
76. Haapaniemi T, Nylander G, Kanje M, Dahlin L. Hyperbaric oxygen treatment enhances regeneration of the rat sciatic nerve. *Exp Neurol* 1998;148:433-38.
77. Scharpf J, Meirer R, Zielinski M, Unsal M, Ramineni P, Dileep N, Siemionow M. A novel technique for peripheral nerve repair. *Laryngoscope* 2003;113:95-101.
78. Xiong G, Ling L, Nakamura R, Sugiura Y. Retrograde tracing and electrophysiological findings of collateral sprouting after end-to-side neurorrhaphy. *C. J Hand. Surg* 2003;8(2):145-50.
79. Kitamura T, Takagi K, Yamaga M, Morisawa K. Brachial plexus stretching injuries: microcirculation of the brachial plexus. *J Shoulder Elbow Surg* 1995;4:118-23.
80. Birch JG, Samchukov ML. Use of the Ilizarov method to correct lower limb deformities in children and adolescents. *J Am Acad Orthop Surg* 2004;12:144-54.
81. Schmidhammer R, Zandieh S, Hopf R, Mizner I, Pelinka LE, Kroepfl A, Redl H. Alleviated tension at the repair site enhances functional regeneration: the effect of full range of motion mobilization on the regeneration of peripheral nerves- histologic, electrophysiologic and functional results in rat model. *J Trauma* 2004;56:571-58.
82. de Medinacelli L, Merle M. How exact should nerve coaptation be? A new answer given by cell surgery. *J Hand Surg* 1991;16:495-8.
83. Jongsma WH, Danielsen N, Johnston JM, Gratto KA, Karchewski KA, Verge VM. Exogenous NT-3 and NGF differentially modulate PACAP expression in adult sensory neurons, suggesting distinct roles in injury and inflammation. *Eur J Neurosci* 2001;14:267-82.

84. Kurihara H, Shinohara H, Yoshino H, Takeda K, Shiba H. Neurotrophins in cultured cells from periodontal tissues. *J Periodontol* 2003;74:76-84.
85. Michalski B, Bain JR, Fahnstock M. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve. *J Neurochem*. 200;105(4):1244-52.
86. Sahenk Z, Oblinger J, Edwards C. Neurotrophin-3 deficient Schwann cells impair nerve regeneration. *Exp Neurol* 2008;212:552-56.
87. Dong Y, Chen Z, Hong G. [Effects of neurotrophic factor 3 gene modified SC on sciatic nerve regeneration in rats]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2009;9:1104-09.
88. Piirsoo M, Kaljas A, Tamm K, Timmusk T. Expression of NGF and GDNF family members and their receptors during peripheral nerve development and differentiation of Schwann cells in vitro. *Neurosci Lett* 2010, 469:135-40.
89. Flecknell PA, Cruz IJ, Liles JH, Whelan G. Induction of anaesthesia with halothane and isoflurane in the rabbit: a comparison of the use of a face-mask or an anaesthetic chamber. *Lab Anim* 1996;30(1):67-74.
90. Kohn D, Geyer M. The subjective shoulder rating system. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1997;116(6-7):324-8
91. Danneman PJ, Mandrell TD. Evaluation of five agents/methods for anesthesia of neonatal rats. *Lab Anim Sci* 1997;47(4):386-95.
92. Bertelli JA, Mira JC. Behavioral evaluating methods in the objective clinical assesment of motor function after experimental brachial plexus reconstruction in the rat. *J Neurosci Methods* 1993;46:203-08.
93. Riis P. Thirty years of bioethics: the Helsinki Declaration 1964-2003. *New Rev Bioeth* 2003;1(1):15-25.
94. Medical Research Council. Aids to the examination of the peripheral nervous system, Memorandum no. 45, Her Majesty's Stationery Office, London, 1981.

95. Kwan, M.K., Wall, E.J., Massie, J., Garfin, S.R., Strain, stress and stretch of peripheral nerve. Rabbit experiments ex vivo and in vivo. *Acta Orthop Scan* 1992;63:267–72.
96. Millesi H, Zoch G, Reihnsner R. Mechanical properties of peripheral nerves. *Clin Orthop Rel Res* 1995;314:76–83.
97. Fiford RJ, Bilston LE. The mechanical properties of rat spinal cord in vitro. *J Biomech* 2005;38:1509-15.
98. Lundborg G, Rydevik B. Effects of stretching the tibial nerve of the rabbit: a preliminary study of the intraneural circulation and the barrier function of the perineurium. *J Bone Joint Surg* 1973;55-B:390-401.
99. Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci* 2004 5,146-156.
100. Sunderland S. Advances in diagnosis and treatment of root and peripheral nerve injury. *Adv Neurol* 1979;22:271-305.
101. Clark WL, Trumble TE, Swiontkowski MF, Tencer AF. Nerve tension and blood flow in a rat model of immediate and delayed repairs. *J Hand Surg* 1992;17:677-87.
102. Rupp A, Dornseifer U, Fischer A, Schmahl W, Rodenacker K, Jütting U, Gais P, Biemer E, Papadopoulos N, Matiassek K. Electrophysiologic assessment of sciatic nerve regeneration in the rat: Surrounding limb muscles feature strongly in recordings from the gastrocnemius muscle *J Neurosci Meth* 2007;166:266-77.
103. Birch R, Rajh AR. Repair of median and ulnar nerves. Primary suture is best. *J Bone Joint Surg Br* 1991;73B:154-57.
104. Haas HG. A method to reduce tension at the suture site. *J Reconstr Microsurg* 1996;12:317-20.
105. Rydevik BL, Kwan MK, Myers RR, Brown RA, Triggs KJ, Woo SL, Garfin SR. An ex vivo mechanical and histological study of acute stretching on rabbit tibial nerve. *J Orthop Res* 1990;8:694-701.

106. Hoen TI, Brackett CE. Peripheral nerve lengthening. *Experimental J Neuros* 1956;13:43-48.
107. Denny-Brown D, Doherty MM. Effects of transient stretching of peripheral nerve. *Arch Neurol Psych* 1945;54:116-29.
108. Ogata K, Naito M. Blood flow of peripheral nerve effects of dissection, stretching and compression. *J Hand Surg* 1986;11:10-14.
109. Haftek J. Stretch injury of peripheral nerve. Acute effects of stretching on rabbit nerve. *J Bone Joint Surg Brit* 1970;52:354-65.
110. Wall EJ, Massie JB, Kwan MK, Rydevik BL, Myers RR, Garfin SR. Experimental stretch neuropathy. Changes in nerve conduction under tension. *J Bone Joint Surg Br* 1992; 74 126-9.
111. Bain AC, Meaney DF. Tissue-level thresholds for axonal damage in an experimental model of central nervous system white matter injury. *J Biomech Eng* 2000;122: 615-22.
112. Takai S, Dohno H, Watanabe Y, Yoshino N, Ogura T, Hirasawa Y. In situ strain and stress of nerve conduction blocking in the brachial plexus. *J Orthop Res* 2002;20:1311-14.
113. Miyamoto, Y Watari, S and. Tsuge, K. Experimental studies on the effects of tension on intraneural microcirculation in sutured peripheral nerves. *Plast Reconstr Surg* 1979;63: 398-403.
114. Zhang F, Inserra M, Richards L, Terris DJ, Lineaweaver WC. Quantification of nerve tension after nerve repair: Correlations with nerve defects and nerve regeneration, *J Reconstr Microsurg* 2001;17:445-51.
115. Butler JM, Bodine-Fowler SC, Abram & Dulbecco RAFL, Botte MJ. Biomechanical properties of the rat sciatic nerve after epineurial repair without tension. *Trans Orthop Res Soc* 1993;18:383.
116. Shulman AG, Amid PK, Lichtenstein IL. The safety of mesh repair for primary inguinal hernias: results of 3,019 operations from five diverse surgical sources. *Am J Surg* 1992;58:255-57.



117. Demirer S, Kepenekci I, Evirgen O, Birsen O, Tuzuner A, Karahuseyinoglu S, Ozban M, Kuterdem E. The effect of polypropylene mesh on ilioinguinal nerve in open mesh repair of groin hernia. *J Surg Res* 2006;131:175-81.
118. Kurihara H, Shinohara H, Yoshino H, Takeda K, Shiba H. Neurotrophins in cultured cells from periodontal tissues. *J Periodontol* 2003;74:76-84.
119. Lykissas MG, Batistatou AK, Charalabopoulos KA, Beris AE. The role of neurotrophins in axonal growth, guidance, and regeneration. *Curr Neurovasc Res* 2007;4:143-51.
120. Sun W, Sun C, Zhao H. Improvement of sciatic nerve regeneration using laminin-binding human NGF-beta. *PLoS One* 2009;4:e6180.
121. Dong Y, Chen Z, Hong G. Effects of neurotrophic factor 3 gene modified SC on sciatic nerve regeneration in rats. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2009; 9:1104-09.
122. Ertem K, Denizhan Y, Yoloğlu S, Bora A. The effect of injury level, associated injuries, the type of nerve repair, and age on the prognosis of patients with median and ulnar nerve injuries. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2005;39:322-7.
123. Millesi H. Factors affecting the outcome of peripheral nerve surgery. *Microsurgery* 2006;26:295-302.
124. Roganovic Z. Missile-caused median nerve injuries: results of 81 repairs. *Surg Neurol* 2005; 63:410-8.

## **ANEXO 1 - Aprovação Comitê de Ética no uso de Animais**

### **Resultado de Solicitação de Protocolo**

**Protocolo**

PP00239

**Título**

Avaliação da regeneração do nervo mediano, em lesões agudas em ratos, por meio de testes de avaliação funcional motora e sensitiva e fatores de crescimento do nervo.

**Data de Entrada**

03/07/2008

**Resultado:**

Aprovado

**Data/Prazo**

03/10/2008

**Considerações**

Ofício nº 133/CEUA/PRPe/2008

Do: Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA

Ao(à): Prof(a) Dr(a) Tânia Silvia Frode - Departamento de Análises Clínicas - CCS

Prezado(a) Professor(a),

Em relação ao protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade a CEUA deliberou o seguinte:

- APROVADO, por 2 (dois) anos, para a utilização de 252 ratos (*Rattus norvegicus*).

- Processo cadastrado sob o número: 23080.038265/2008-07

Por ocasião do término desse protocolo, DEVERÁ SER APRESENTADO RELATÓRIO detalhado relacionando o uso de animais no Projeto desenvolvido aos resultados obtidos, conforme formulário ON LINE CEUA.

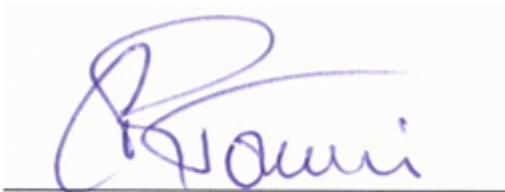
Atenciosamente,

**Relatório Final previsto para (90 dias após término da vigência do protocolo ou no momento da apresentação de um novo protocolo)**

**Data 08/01/2011**

Data 08/10/2008

**Parecer(es):**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'R. Tonussi', is written over a horizontal line.

**Prof. Assoc. Carlos Rogério Tonussi, D.Sc.  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – PRPE  
PRESIDENTE**

## **ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e esclarecido**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

#### Consentimento pós informação

Você está sendo convidado a participar voluntariamente de um estudo de pesquisa

sobre dois tipos de procedimentos cirúrgicos para o tratamento de lesão de nervo mediano. Esta folha de informação tem como objetivo fornecer-lhe maiores detalhes sobre este estudo, de tal forma que você possa decidir se deseja ou não participar do mesmo.

As lesões de nervos periféricos, nas mãos por exemplo são consideradas as mais incapacitantes levando o paciente a ter uma qualidade de vida ruim. Os tipos de trauma que induzem as lesões de nervos periféricos são: cortes do nervo, estiramento e lesão de raiz nervosa. Estas lesões podem ainda serem irreversíveis. As lesões graves dos membros superiores estão relacionadas a perdas sócio-econômicas. O único tratamento para estas lesões é a cirurgia.

O estudo tem como objetivo avaliar o reparo de nervo mediano utilizando-se dois procedimentos cirúrgicos: 1) enxertia do nervo sural e 2) técnica de sutura nervosa imediata sob tensão aliviada.

#### Termos de Participação e assinatura

**Pesquisa:** Avaliação funcional da recuperação dos pacientes com lesão do nervo mediano e submetidos ao reparo cirúrgico com a técnica de enxertia ou a de sutura nervosa imediata sob tensão aliviada.

Responsáveis: Dr. Paulo Roberto Kechele e Jaime Bertelli e Profa. Dra. Tânia Silvia Fröde

#### Dados do paciente

Nome do paciente: RG:

CPF:

Data de nascimento:

Endereço:

Telefone:

Eu, abaixo assinado, aceito participar voluntariamente de uma pesquisa para estudar o reparo de nervo mediano utilizando-se dois procedimentos cirúrgicos: 1) enxertia do nervo sural e 2) técnica de sutura nervosa imediata sob tensão aliviada.

Estou ciente que para participar do estudo serei submetido a um procedimento cirúrgico. Por tratar-se de procedimento invasivo, durante a cirurgia, no procedimento anestésico, no transcorrer do ato operatório, podem ocorrer condições que necessitem procedimentos médicos adicionais como por exemplo: transfusões de sangue, ou técnicas cirúrgicas diferentes das inicialmente propostas. Ainda pode ocorrer reações ao procedimento anestésico, perdas de sangue, além do volume estimado para o seu procedimento cirúrgico, reações alérgicas à medicações que venham a ser administradas, infecções, perdas de sensibilidade transitórias ou definitivas na área do corte da pele, ou em extremidades de membros, ou ainda formação de cicatrizes exageradas (quelóides). Sei que posso sair do estudo em qualquer momento e que isso não irá prejudicar o meu tratamento no ambulatório de ortopedia e traumatologia do Hospital Governador Celso Ramos. Estou ciente que a pesquisa será realizada apenas para portadores de lesões de nervo mediano, e seus resultados serão identificados apenas por códigos, não havendo identificação do paciente. Esses resultados poderão ser conhecidos apenas por mim e por meu médico, mediante prévia autorização. Sei que terei acesso a aconselhamento caso necessário.

Eu li / ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimento sobre minhas dúvidas oralmente. Entendi o propósito do estudo e os riscos de minha aceitação em participar do mesmo. A minha assinatura a seguir, indica que concordei a participar voluntariamente do estudo.

Data  
responsável

Assinatura do pacientes ou

Eu, abaixo assinado, expliquei e discuti todos os detalhes deste estudo com o paciente, usando uma linguagem compreensível e apropriada e acredito que o mesmo tenha entendido a explicação.

Paulo Roberto Kechele

Telefones:

Dr. Paulo Roberto Kechele —(48) 32247466

Dr. Jaime Augusto Bertelli (48) 32294000

Profa. Dra. Tânia Silvia Fröde – (48) 37219712 ramal 211



### **ANEXO 3 - Resumo trabalho publicado intitulado- The mesh repair: tension free alternative on dealing with nerve gaps- experimental results**

[Microsurgery](#). 2011 Oct;31(7):551-8. doi: 10.1002/micr.20902. Epub 2011 May 31.

The mesh repair: tension free alternative on dealing with nerve gaps- experimental results.

[Kechele PR](#), [Bertelli JA](#), [Dalmarco EM](#), [Fröde TS](#).

#### **Source**

Departamento de Clínica Cirúrgica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Trindade, Florianópolis, SC, Brazil. pkechele@gmail.com

#### **Abstract**

We evaluated the feasibility of external epineurial splinting as a way of alleviating tension caused by sutures in the reconstruction of peripheral nerve injuries, utilizing Wistar rat median nerve injury on 40 animals, in four experimental groups with 10 animals on each surgical setting. The nerve regeneration outcomes of four surgical procedures were compared: 1) primary end-to-end sutures (EES); 2) alleviated tension sutures (ATS) with a removal of 7 mm nerve segment, namely external epineurial splinting, utilizing a polypropylene mesh as a protective scaffold; 3) sutures under tension with a 7 mm gap between nerve stumps; and 4) sham (C) (n = 10 animals). Regeneration of the median nerve postneurorrhaphy was followed by means of functional evaluations, including time to first day of finger flexion recovery, and grasp strength; quantification of atrophy of the flexor pronator muscle group; and mRNA expression of nerve growth factor and neurotrophin-3 by polymerase chain reaction-reverse transcriptase. Similar, significant median nerve regeneration was observed in the EES-treated and ATS-treated groups, relative to controls. The EES and ATS surgical procedures methods demonstrated important similar results considering functional and molecular biology analysis of the median nerve injury.





## **ANEXO 4 - Resumo trabalho publicado intitulado- Mesh epineurial splinting for late median nerve repair in older patients: a preliminary report**

[Microsurgery](#). 2011 Sep;31(6):441-7. doi: 10.1002/micr.20891. Epub 2011 May 31.

Mesh epineurial splinting for late median nerve repair in older patients: a preliminary report.

[Bertelli JA](#), [Kechele PR](#), [Ghizoni MF](#), [Fröde TS](#).

### **Source**

Center of Biological and Health Sciences, University of the South of Santa Catarina (Unisul), Tubarão, SC, Brazil. bertelli@matrix.com.br

### **Abstract**

Eleven patients over 40 years old, with median nerve lesions at the wrist, were operated on an average of 5 months after their injury. In six patients, the median nerve was repaired using a polypropylene mesh applied to secure the nerve stumps in contact, thereby allowing for direct repair with microsutures. Six patients had their median nerve repaired with sural grafts. The average gap length was 2.8 cm for the mesh repair, whereas it was 3.7 cm for the graft repair group. Eighteen months after surgery, pressure thresholds were perceived in the index and thumb pulp by all six patients with a mesh repair but in only two of five patients with a graft repair. Five in the mesh repair group recovered function in the abductor pollicis brevis muscle, versus none in the graft group. These preliminary results suggest that, in older patients, the use of a mesh to splint the coaptation site followed by direct nerve repair yields better recovery than conventional sural grafts.